Série A, N° 2129
N° d'ordre :
3.000

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

ALEXANDRE D. HERSCHBERG

1re THÈSE :

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA RÉGULATION PHYSIOLOGIQUE DU SYSTÈME ACÉTYLCHOLINE-CHOLINESTÉRASE

2e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 21 JUIN 1946 **devant la Commission d'examen.**

MM. ROBERT-LÉVY, *Président.*

SCHAEFFER
AUBEL } *Examinateurs.*

PARIS
IMPRIMERIE UNION, 13, RUE MÉCHAIN
1946

Série A, N° 2129
N° d'ordre :
3.000

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

ALEXANDRE D. HERSCHBERG

1re THÈSE :

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA RÉGULATION PHYSIOLOGIQUE DU SYSTÈME ACÉTYLCHOLINE-CHOLINESTÉRASE

2e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le devant la Commission d'examen.

MM. ROBERT-LÉVY, *Président.*

SCHAEFFER
AUBEL
} *Examinateurs.*

PARIS
IMPRIMERIE UNION, 13, RUE MÉCHAIN
1946

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen..... M. Paul MONTEL

PROFESSEURS

P. MONTEL	T	Théorie des Fonctions.
L. BLARINGHEM	T	Botanique.
G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
C. MAUGUIN	T	Minéralogie.
A. MICHEL-LÉVY	T	Petrographie.
A. DENJOY	T	Géométrie supérieure.
L. LUTAUD	T	Géographie physique et géologie dynamique.
E. DARMOIS	T	Enseignement de Physique.
M. JAVILLIER	T	Chimie biologique.
Robert LÉVY	T	Physiologie comparée.
Henri VILLAT	T	Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB	T	Géologie.
P. PASCAL	T	Chimie générale.
M. FRÉCHET	T	Calcul des probabilités et Physique mathématique.
E. ESCLANGON	T	Astronomie.
Mme RAMART-LUCAS.	T	Chimie organique.
H. BÉGHIN	T	Mécanique physique et expérimentale.
FOCH	T	Mécanique expérimentale des fluides.
PAUTHENIER	T	Electrotechnique générale.
DE BROGLIE	T	Théories physiques.
CHRÉTIEN	T	Optique appliquée.
JOB	T	Chimie générale.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.
VILLEY	T	Mécanique appliquée.
COMBES	T	Physiologie végétale.
GARNIER	T	Application de l'analyse à la Géométrie.
PÉRÈS	T	Mécanique rationnelle.
HACKSPILL	T	Chimie minérale.
LAUGIER	T	Physiologie générale.
TOUSSAINT	T	Technique Aéronautique.
M. CURIE	T	Physique (P. C. B.).
G. RIBAUD	T	Hautes températures.
CHAZY	T	Mécanique analytique.
GAULT	T	Chimie appliquée.
CROZE	T	Physique théorique et Physique céleste.
DUPONT	T	Théories chimiques.
LANQUINE	T	Géologie structurale et géologie appliquée.
VALIRON	T	Calcul différentiel et Calcul Intégral.
BARRABÉ	T	Géologie structurale et géologie appliquée.
F. PERRIN		Théories physiques.
VAVON	T	Analyse et mesures chimiques.
G. DARMOIS	T	Mathématiques générales.
CHATTON	T	Biologie maritime.
AUBEL	T	Chimie biologique.
Jacques BOURCART		Géographie physique et Géologie dynamique.
Mme JOLIOT-CURIE		Physique générale et Radioactivité.
PLANTEFOL	T	Botanique.
CABANNES	T	Recherches physiques.
GRASSE	T	Zoologie (Évolution des êtres organisés).
PRÉVOST		Chimie organique.
BOULIGAND		Mathématiques.
CHAUDRON		Chimie.
WYART		Minéralogie.
TEISSIER	T	Zoologie.
MANGENOT	T	Biologie végétale.
P. AUGER	T	Physique quantique et relativité.
MONNIER		Physiologie générale.
PIVETEAU		Géologie.
ROCARD		Physique.
H. CARTAN		Calcul différentiel.
SCHAEFFER	T	Physiologie des fonctions.
LAFFITTE		Chimie (P.C.B.).
LERAY	T	Mécanique théorique des fluides.
FAVART		Calcul des probabilités et Physique-Mathématique.
COULOMB	T	Physique du globe.
Mlle COUSIN		Biologie animale (P. C.B.).
CHRÉTIEN		Analyse et mesures chimiques.
DRACH		Évolution des êtres organisés.
CHATELET	T	Arithmétique et théorie des nombres.
EPHRUSSI	T	Génétique.
WURMSER	T	Biologie physico-chimique.
KASTLER		Physique.
BAUER	T	Chimie-Physique.
RIVIÈRE		Géologie (P.C.B.).

Secrétaire..... CH. MONIER

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ROBERT LÉVY

qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SCHAEFFER

qui a bien voulu nous donner ses très précieux conseils sur la présentation de notre travail et en être le Rapporteur.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AUBEL

Hommage reconnaissant et très respectueux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LEON BINET

en témoignage de notre profonde gratitude et de notre admiration.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ED. FROMMEL

qui nous a accueilli si cordialement dans son Institut et nous a permis d'y effectuer nos recherches.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR EMILE ARON

en témoignage d'une fidèle amitié.

A Mlle JEANNE PIQUET, Docteur ès Sciences,

qui a tout fait pour faciliter notre tâche.

AUX MIENS

INTRODUCTION

Le système Acétylcholine-Cholinestérase a pris, au cours de la dernière décade, une importance primordiale dans l'interprétation de la transmission synaptique des influx nerveux.

Si certains auteurs considèrent le système comme seul responsable de cette transmission, d'autres ne lui accordent qu'un rôle accessoire, celui d'un épiphénomème de la transmission « électrique » proprement dite. La question du rôle exact de l'Acétylcholine (1) *et par conséquent de la Cholinestérase* (1), *reste encore à élucider et nous ne voulons (ni ne pouvons actuellement) prendre sur ce point une position définitive.*

Le but que nous nous sommes assigné pour notre thèse est strictement limité : nous avons voulu explorer l'influence sur l'activité de l'ACh et de la CHE d'un certain nombre de facteurs physiologiques (hormones, vitamines, ions, acides aminés, système nerveux, etc), afin de mieux saisir la régulation normale de ce système.

Cette étude nous a paru digne d'intérêt, car l'activité du couple ACh-CHE nous permet de pénétrer plus avant dans le mécanisme intime de certains processus biologiques essentiels. L'observation du fonctionnement de l'enzyme découvre, à leur état élémentaire, les divers rouages de nombreux phénomènes vitaux, qu'ils soient d'ordre physiologique, pharmacodynamique ou pathologique.

***

Nos recherches ont porté sur les divers facteurs physiologiques pouvant entraîner des modifications d'activité de la CHE ou de l'ACh. Les expériences ont été pratiquées tant in vitro qu'in vivo, en général sur le Cobaye. Nous avons parfois utilisé un enzyme provenant d'Invertébrés (Escargots, Sangsues), afin de prouver la généralité de nos constatations.

Dans une première partie de notre travail nous rappèlerons les principales données concernant la physiologie de l'ACh et les caractéristiques principales de la CHE.

Puis nous aborderons la partie essentielle de notre étude, à savoir l'influence des hormones, des vitamines, des ions, des acides amines, de l'histamine, etc.

Nous mentionnerons enfin les données que nous avons acquis sur une régulation nerveuse centrale du taux de la CHE sérique.

---

(1) Dans notre texte, le terme Acétylcholine sera représenté par le symbole ACh, celui de Cholinestérase, par CHE.

Nos conclusions ne sont pas toujours absolues. Elles ne peuvent l'être, car d'autres facteurs doivent encore subir l'exploration expérimentale. D'ailleurs, nos essais devaient nécessairement se limiter aux moyens d'investigation qui étaient à notre disposition. C'est pour cette raison majeure que nous avons, le plus souvent, borné notre travail à la CHE sérique. Nous ne doutons certes pas que l'exploration des enzymes musculaires ou globulaires ne soit aussi intéressante. Nos données devront donc trouver une extension à d'autres tissus.

Nous croyons néanmoins que notre travail remplit certaines lacunes de la connaissance — encore bien rudimentaire, malgré les multiples recherches — de ce système enzymatique.

*
**

.. Ces recherches n'ont pu être effectuées que grâce à l'aimable obligeance de Monsieur le Professeur Edouard FROMMEL, *qui nous a ouvert si cordialement et si largement les portes de son Institut, et qui nous a permis d'y entreprendre nos recherches.*

Nos remerciement les plus vifs vont également à Mademoiselle Jeanne PIQUET, *Docteur ès Sciences, Chef de Travaux de l'Institut de Thérapeutique, dont l'amitié nous a été si chère dans notre période d'exil et dont l'aide quotidienne nous a été si précieuse dans chacune des expériences entreprises.*

Nous devons encore notre reconnaissance à Monsieur le Professeur Emile ARON *(de Tours), qui a bien voulu nous honorer de son amitié et qui nous a encouragé dans nos recherches par ses excellents conseils.*

PREMIÈRE PARTIE

LE SYSTÈME ACÉTYLCHOLINE-CHOLINESTÉRASE
GÉNÉRALITÉS

Rappel du rôle physiologique du système ACh-CHE

Les recherches de Lœwi, de Dale et de leurs élèves ont montré que lors d'une excitation nerveuse, il apparaît aux synapses (nerveuses et neuro-effectrices) une certaine quantité d'ACh. Les multiples travaux qui ont suivi ces découvertes capitales ont permis de prouver que la transmission des influx nerveux, tant dans les synapses centrales que périphériques, se fait grâce aux médiateurs chimiques, l'ACh et la sympathine. Le mécanisme de transmission cholinergique est général. Il intéresse le système nerveux central, les nerfs moteurs volontaires, le pneumogastrique moteur et sécrétoire et les fibres sympathiques préganglionnaires. La transmission adrénergique forme l'exception et ne se trouve que dans les fibres sympathiques postganglionnaires. D'après Dale, elle serait, dans l'ordre phylogénique, secondaire à la transmission cholinergique.

Le nerf excité émet de l'ACh à sa terminaison, et ce médiateur chimique est responsable de la propagation du stimulus aux fibres nerveuses post-synaptiques ou aux effecteurs organiques.

Mais pour que la stimulation nerveuse soit unique, pour que chaque excitation n'entraîne qu'une seule réponse, il faut que, pendant la phase réfractaire, l'ACh produite soit inactivée très rapidement. Ce rôle est dévolu à la CHE qui décompose l'ACh en choline et acide acétique, physiologiquement inactifs. Nous verrons plus loin que l'activité de la CHE est suffisante pour assurer la saponification de toute l'ACh émise pendant la phase réfractaire, fait qui lève la principale objection de Eccles (1937) à la transmission humorale des influx nerveux.

Cependant, les électrophysiologistes n'ont accordé jusqu'à présent, qu'une importance secondaire aux médiateurs chimiques. Pour ces chercheurs, le système ACh-CHE ne servirait qu'à créer les conditions favorables (états de dépolarisation ou de polarisation) à la transmission électrique des influx nerveux. Gerard (1942) conclut ainsi sa revue annuelle sur les progrès de l'électrophysiologie : « Il semble que la vue suivante gagne du terrain : le groupe d'agents acétylcholiniques, ainsi que l'ion K^+, servent à modifier la réactivité du muscle à l'agent transmetteur ; ce ne sont pas les transmetteurs eux-mêmes ».

Cependant, Nachmansohn, étudiant tout dernièrement la production d'électricité par l'organe électrique de la Torpille, a pu faire la constatation intéressante que l'activité du système ACh-CHE fait naître des différences de potentiel importantes. Un processus purement chimique provoquerait ainsi, in vivo, la naissance d'une grande énergie électrique. Est-ce là la solution du problème ? Il est fort possible que dans les nerfs et

les synapses centrales, les différences de potentiel se produisent ainsi par l'activité du système ACh-CHE et permettent la transmission « électrique » des influx nerveux.

Quoi qu'il en soit, il nous apparaît comme certain que l'ACh et son ferment inactivateur jouent un rôle de premier plan dans la transmission des influx nerveux.

Si le rôle de l'ACh est de transmettre les influx nerveux, celui de la CHE est de limiter, dans le temps et dans l'espace, l'action de ce médiateur chimique. La CHE est donc essentiellement un *ferment de défense.* C'est une barrière contre l'inondation de l'organisme par l'ACh, dont la puissante activité pharmacodynamique, si elle se prolongeait, serait incompatible avec la vie.

La signification physiologique de la CHE devient évidente si, par un artifice expérimental, on diminue fortement son action. L'ésérine, inhibiteur le plus puissant de cet enzyme, nous permet de freiner au maximum compatible avec la survie, la fonction cholinestérasique.

C'est ainsi que Saalfeld (1934), injectant au Chien de fortes doses d'ésérine, a observé que l'excitation d'un seul filet parasympathique entraîne l'apparition, dans la circulation générale, du médiateur chimique, qui transmet au loin les effets vagaux et provoque une excitation étendue. Vincent (1939), a traité des Cobayes, par des quantités maximales d'ésérine (4 à 5 mgr) et noté le passage dans le sang de fortes quantités d'ACh (14 à 36 gammas/litre) et même davantage, si l'animal a survécu au delà de 30 à 60 minutes (70 à 120 gammas/litre d'ACh). De même, l'injection d'ACh, à dose non mortelle, entraîne chez le Cobaye fortement ésériné, la mort instantanée, avec la présence dans le sang de doses énormes d'ACh (200 à 3.000 gammas/litre).

Ces deux séries expérimentales concordantes mettent parfaitement en évidence l'activité essentielle de la CHE : son pouvoir antitoxique.

Localement, l'élimination plus ou moins totale de l'activité cholinestérasique, entraîne également des perturbations fonctionnelles graves. On utilise à cette fin un inhibiteur synthétique, la Prostigmine, dépourvu de tout autre pouvoir que celui d'inhiber la CHE. Les recherches de Schweitzer et Wright (1937, a, b ; 1938), celles de Schweitzer, Stedman et Wright (1938, 1939), montrent que la prostigmine, ainsi que d'autres anti-cholinestérasiques purs (comme le métacompound de Stedman), donnent des effets dépresseurs sur les réflexes somatiques. Cette action est absolument identique à celle qu'exerce l'ACh sur la moelle.

Donc, que l'effet soit général ou local, l'inhibition de la CHE laisse le jeu libre à l'ACh.

Une dernière expérience démontre pleinement cette importance de la CHE. Youngstrom (1938), a constaté que si l'on

intoxique par l'ésérine des embryons de Grenouille au début du stade natatoire, on constate une paralysie progressive de la musculature squelettique, une perte graduelle de l'excitabilité de l'embryon envers les stimuli mécaniques. L'embryon développe une contracture généralisée.

Une paralysie et une contracture identiques ont été observées chez ces embryons au stade natatoire précoce, si on les oblige à nager continuellement par des excitation mécaniques répétées. Ce phénomène ne s'observe plus après la deuxième moitié du stade natatoire.

Dans ces deux séries d'expériences, les troubles moteurs sont dûs à une perturbation du système ACh-CHE. En effet, Youngstrom, étudiant la teneur en CHE de ces embryons (Amblystoma, Bufo et Rana), montre que le taux cholinestérasique, dosable dès le stade des 2-4 blastomères, reste très bas jusqu'à la première moitié de stade natatoire, puis monte presque verticalement.

Donc, pendant ce premier stade, où se situent les expériences, l'animal présente une carence relative en CHE, révélée par l'ésérination ou par une surproduction d'ACh (lors des excitations mécaniques permanentes). Dans les deux cas, la CHE se trouve en quantité insuffisante pour détruire toute l'ACh formée et la contracture s'établit.

Si l'expérience ne réussit pas dans la deuxième moitié du stade natatoire, c'est qu'à ce moment le ferment se multiplie massivement et devient largement suffisant pour subir l'inhibition partielle par l'ésérine ou une inondation physiologique d'ACh, sans laisser s'accumuler l'hormone.

Action physiologique de la CHE

La médiation cholinergique n'est possible, en vérité, que par l'intervention de la CHE qui inactive, aussitôt formée, l'ACh libérée lors d'une impulsion nerveuse. Ainsi, l'action d'une nouvelle décharge acétycholinique devient possible.

La grande objection que l'on a opposée à la transmission neuro-humorale des influx nerveux est la rapidité des processus. Eccles (1937), admet la possibilité d'une transmission cholinergique pour les muscles lisses, car leur contraction est lente. Il considère, par contre, impossible cette transmission pour des muscles rapides et surtout pour les synapses centrales, dont la phase réfractaire ne dépasse pas 2 millisecondes. Le calcul du Qche (1) de la plupart des organes subissant la transmission cholinergique ne pouvait permettre de croire que la CHE de ces organes était suffisamment abondante pour détruire, dans ce bref espace de temps toute l'ACh libérée.

---

(1) Qche = Quotient cholinestérasique. C'est la quantité en mgr d'ACh détruite en 60 minutes par 100 mgr de tissu frais à 37°C et à un pH de 7,8.

C'est aux travaux de Glick et de Nachmansohn que nous devons la démonstration de la possibilité d'une transmission cholinergique dans les synapses du système nerveux central et dans les fonctions neuro-musculaires.

LA CHE SUFFIT A ASSURER LA PHASE REFRACTAIRE :

a) Dans les synapses neuro-musculaires.

D'après Dale, Feldberg et Vogt (1936), la dose d'ACh qui, en injection intra-artérielle proximale, donne une contraction maximale du gastrocnémien du Chat est de 1 v. Pour que cette quantité d'ACh soit hydrolysée de 10 % par la CHE musculaire, il faut, à 37°, environ 75 secondes. La période réfractaire du muscle de Mammifère étant inférieure à 5 millisecondes, la CHE musculaire doit donc être 15.000 fois plus active pour assurer cette hydrolyse.

Mais, les travaux de Marnay et Nachmansohn (1937) ont prouvé que la CHE musculaire se concentre essentiellement au niveau des plaques motrices, là où, physiologiquement, le médiateur chimique est mis en liberté. Divers calculs ont permis à ces auteurs de constater que le Qche des plaques motrices était 20.000 fois plus élevé que celui du muscle pris dans sa totalité. Cette concentration de CHE suffit donc à assurer la phase réfractaire physiologique.

Il faut également faire remarquer que, dans l'expérience de Dale, *l'ACh* était injectée par voie intra-artérielle, alors que physiologiquement, le nerf secrète l'ACh directement au niveau des plaques motrices. Il est plus que probable que la quantité d'ACh secrétée par le nerf, lors de son excitation, est bien inférieure à celle nécessaire pour produire la contraction musculaire par voie artérielle.

D'autre part, si l'on admet avec Marnay et Nachmansohn (1938) que les terminaisons nerveuses d'un muscle couturier de Grenouille (pesant 300 mgr) peuvent inactiver 0,001 d'ACh pendant la période réfractaire de ce muscle (5 millisecondes), on peut calculer que la CHE accumulée au niveau d'une seule terminaison nerveuse motrice peut scinder, pendant la même période, 0,000,002 v d'ACh, soit 8.10^9 molécules. Il est évident que cette activité cholinestérasique est largement suffisante pour détruire toute l'ACh libérée physiologiquement par une terminaison nerveuse, lors d'un seul influx nerveux.

Toutefois, ce raisonnement a été battu en brèche par les constatation de Clark, Raventos, Stedman et Stedman (1938). En effet, l'activité de la CHE sur de basses concentration de substrat (entre $1/10^5$ et $1/10^6$) obéit à la loi :

$$Y = k\,(X)^{0,83}$$

Or, ce facteur de correction, appliqué aux calculs de Marnay et Nachmansohn, montre que, pour admettre le trans-

mission humorale des influx nerveux au muscle, il faudrait que la phase réfractaire de celui-ci fut de 0.1 seconde.

Little et Bennett (1940), se basant sur un raisonnement identique, nient également la participation de la CHE à la phase réfractaire du muscle.

Cependant, Nachmansohn (1939), a refuté ces arguments en montrant que, même avec le facteur de correction de Clark, la concentration de la CHE au niveau des plaques motrices est suffisante pour inactiver l'ACh produite, pendant la brève durée de la phase réfractaire.

A notre avis, l'on doit également tenir compte de l'entraînement continuel des produits de scission de l'ACh par le courant circulatoire. L'inhibition de la CHE par la choline, qui est cause du facteur de correction, n'est vraie que pour les expériences in vitro, telles que celles pratiquées par Clark.

Pour ces raisons, nous restons persuadé que la CHE des plaques motrices suffit à détruire pendant la phase réfractaire l'ACh émise lors de la stimulation nerveuse.

b) Dans les ganglions sympathiques.

Par sa microméthode, Glick (1937 ; 1938), a pu mesurer l'activité cholinestérasique maxima d'un ganglion cervical de Chat. Ce ganglion sympathique peut scinder, à pH 7,4 et 38° C, environ 0,10 v d'ACh sec/mgr de tissu frais. Le temps le plus bref nécessaire pour détruire la quantité d'ACh libérée dans le ganglion lors d'une seule impulsion nerveuse est calculé à environ 0,015 millisecondes.

La constante de dissociation de la réaction entre le ferment et son substrat étant de 0,0011 (Glick, 1937), on peut estimer le temps nécessaire pour cette scission, dans les conditions de vitesse minimales, à 8 secondes.

C'est pourquoi il faut que l'enzyme et le substrat se trouvent dans le voisinage immédiat l'un de l'autre, de sorte que les conditions de scission maxima puissent être réalisées. Or, les travaux de Nachmansohn ont prouvé que la concentration de la CHE se fait au niveau des synapses, qui n'occupent qu'une très faible partie du volume du ganglion.

Si l'on admet (Glick, 1938) que l'étendue de cette localisation est inférieure à 1/420e du volume total du ganglion, ce qui est probablement le cas, le ferment, (en se limitant à la période réfractaire de 2 millisecondes) ne devra agir qu'avec 0,75 % de sa vitesse théorique maxima pour détruire l'ACh libérée par un seul influx nerveux.

Comme, lors d'une excitation continue, pendant 5 minutes, du ganglion cervical supérieur du Chat, la quantité d'ACh libérée à chaque impulsion baisse fortement et tombe au 1/5 de sa valeur initiale, on peut admettre qu'après cette période, l'activité fermentaire pourra se contenter de 0,15 % de sa puissance maximum.

De son côté, NACHMANSOHN (1938), apporte d'autres preuves de l'activité suffisante de la CHE dans le ganglion sympathique cervical de Chien.

La richesse en CHE du ganglion serait proportionnelle à celle des synapses. Divers calculs ont permis à NACHMANSOHN de fixer à 0,0003 mgr, soit 10^{12} molécules d'ACh, les possibilités d'hydrolyse en 1 milliseconde de ce ganglion.

Or, FELDBERG et GADDUM (1934), ont montré que, lors d'un seul reflux nerveux, il est libéré à une seule synapse, 3.10^3 molécules d'ACh dans le ganglion cervical supérieur du Chat. Ce ganglion contiendrait, selon BILLINGSLEY et RANSON, environ 100.000 cellules.

On admettra donc, avec FELDBERG et VERTAINEN (1935) et MACINTOSH (1938) que la quantité d'ACh libérée au niveau d'un ganglion lors d'une seule impulsion nerveuse, soit de 3 à 4 fois inférieure aux possibilités d'hydrolyse de ce ganglion pendant la phase réfractaire.

c) Dans le système nerveux central.

Si l'on transpose les chiffres trouvés par FELDBERG et GADDUM (1934), au système nerveux central, on peut dire que le montant d'ACh libéré dans le thalamus ou le cervelet de Poule est d'environ 10^{14} molécules en une milliseconde. Or, la concentration en CHE de ces organes est largement suffisante pour détruire, pendant la phase réfractaire, cette quantité d'ACh (NACHMANSOHN, 1938).

Ainsi, la concentration de CHE et surtout sa distribution dans les organes riches en synapses, proportionnellement au nombre de celle-ci, sa localisation au niveau des terminaisons nerveuses, sont autant de preuves de la transmission humorale de l'influx nerveux.

Les calculs ont permis de montrer que la concentration de CHE est suffisante au niveau des synapses nerveuses et neuro-musculaire pour inactiver, pendant la période réfractaire, l'ACh libérée par les influx nerveux.

CHOLINESTERASE ET RAPIDITE DU MUSCLE

La rapidité d'un muscle dépend, d'une part, de sa chronaxie et, d'autre part, de sa phase réfractaire. Or, ces deux éléments sont en relations étroites avec la teneur du muscle en CHE.

Plus un muscle est rapide, plus sa chronaxie est basse, plus la teneur en CHE est haute dans ce muscle, conditionnant une phase réfractaire brève.

Divers travaux de MARNAY (1937 ; 1938) et de MARNAY et NACHMANSOHN (1937) permettent d'établir le tableau suivant :

Animal	QCHE	Phosphagène en mgr de $P^{2}0^{5}$/mgr	Chronaxie en millisecondes
Tortue	0,16	0,40	1,2
Crapaud	0,24	0,60	0,8
Grenouille	0,44	1,0 à 1,5	0,3
Lézard	1,25 à 2,20	—	—

Donc, plus le muscle est rapide, plus son taux de CHE est élevé. Il est facile de conclure que c'est le taux de la CHE au niveau des plaques motrices qui conditionne la rapidité d'un muscle et la brièveté de la phase réfractaire.

CHOLINESTERASE ET FATIGUE

Il est intéressant de constater que la fatigue n'atteint que les organes dont le fonctionnement est régi par la transmission humorale des influx nerveux : système nerveux central, nerfs, synapses neuro-musculaires, muscles, organes des sens, etc.

En ce qui concerne le système moteur, la fatigue commence par le neurone moteur périphérique, puis s'étend successivement à la plaque motrice, au muscle et atteint, en dernier lieu, la fibre nerveuse elle-même.

STEINMANN (1940), qui a pu étudier les phénomènes de fatigue sur un seul élément neuro-musculaire, préparé à partir du couturier de Grenouille, distingue deux sortes de fatigue :

a) la fatigue musculaire proprement dite : le muscle répond à chaque excitation (5 impulsions par seconde), mais la hauteur de la contraction diminue. Cette fatigue est due à l'épuisement des réserves nutritives du muscle et à l'accumulation des déchets du métabolisme.

b) la fatigue de la plaque motrice : le muscle répond d'abord à toutes les excitations, puis devient réfractaire et ne se contracte que de temps en temps, fournissant une réponse maximale suivant la loi du tout ou rien. L'espace entre deux réponses est irrégulier et s'allonge de plus en plus, alors que l'amplitude de la contraction reste maximale.

L'ésérine double la hauteur de la contraction pour une même stimulation si l'on excite le nerf une fois toutes les 10 secondes. En augmentant la fréquence des excitations (10 par seconde), on assiste aux mêmes phénomènes de la fatigue de la plaque motrice.

Il est donc permis de supposer que la fatigue de la plaque neuro-musculaire provient d'une insuffisance relative de la CHE musculaire. Cette hypothèse trouve une confirmation dans les expériences de YOUNGSTROM (1938) sur les embryons de Batraciens. Nous avons déjà parlé de la paralysie et de la contracture qui se développe chez ces embryons au stade natatoire précoce, si on les oblige à nager continuellement par des exci-

tations mécaniques répétées. C'est qu'à ce stade, le taux de la CHE de ces embryons est extrêmement bas et ne peut suffire à inactiver toute l'ACh produite : d'où contracture de fatigue par inondation acétylcholinique.

D'autre part, la fatigue peut s'établir par l'insuffisance de production d'ACh, ou par épuisement des réserves de complexe acétylcholinique.

C'est pourquoi certaines substances jouent un rôle important dans la production ou la défense contre la fatigue (Staub, 1942) :

Diminuent la fatigue :

— l'ésérine et la prostigmine, en favorisant l'action de faibles doses d'ACh ;

— les ions K, en augmentant la décomposition du complexe acétylcholinique ;

— la caféine et l'adrénaline, en agissant directement sur la fibre musculaire, dont ils augmentent la sensibilité à l'ACh.

Accroissent la fatigue :

— l'atropine, en diminuant l'activité de l'ACh ;

— la quinine, qui agit directement sur le muscle et le « désensibilise » à l'action de l'ACh.

— le curare et le venin de Cobra, qui bloquent les récepteurs acétylcholiniques du muscle.

De toutes ces données phamacologiques, on peut déduire qu'il existe deux sortes de fatigue au niveau de la plaque neuro-musculaire ;

a) la fatigue par inhibition de la CHE, donnant lieu à la *contracture de fatigue* et

b) la fatigue par épuisement des réserves d'ACh, donnant lieu à la *curarisation de fatigue.*

Il est actuellement impossible de considérer cette interprétation comme définitivement acquise. Elle reste une hypothèse de travail et attend une démonstration plus précise. Cependant, c'est une hypothèse riche en promesses.

CHOLINESTERASE ET ELECTRICITE ANIMALE.

Dès 1937, Marnay a attiré l'attention sur le fait que l'organe électrique de certains poissons ressemble à une accumulation de plaques motrices. En réalité, c'est un empilement de ces plaques.

Cette ressemblance est d'autant plus grande que la teneur en CHE de l'organe électrique de la Torpille est 1.000 fois plus forte que celle de la partie aneurale du couturier de la Grenouille. Son Qche est en moyenne de 153. C'est la plus haute teneur en CHE que l'on puisse trouver.

Il y a une relation directe entre le nombre de plaques motrices et le voltage émis.

D'après NACHMANSOHN (1940) :

Animal	volts/cm	nombre de plaques/cm	QCHE
Raie	0,5	15	3 à 10
Gymnote	5-10	60-80	90 à 150
Torpille	8-15	100-200	150-300

La disposition de ces plaques joue également un grand rôle.

Animal	nombre de plaques par série	décharge max en volts	mgr d'ACh hydrolysée par l'organe en 1 seconde.
Raie	60-80	1-3	0,5-1,0
Torpille	400-500	30-60	50-100
Gymnote	5.000-6.000	300-800	500-1.000

La distribution de la CHE dans l'organe électrique d'Electrophorus electricus L. donne, en allant de la tête vers l'extrémité caudale, une courbe en forme de S horizontal. Le maximum se trouve vers la fin de la tête. Or, cette courbe est identique à celle que l'on peut obtenir en comptant sur des coupes successives le nombre des plaques et la force électromotrice par cm. (NACHMANSOHN, COATES et COX, 1941).

Tous ces arguments montrent une liaison étroite entre le système ACh-CHE et la production de l'électricité chez les poissons.

FELDBERG et FESSARD (1942) on pu prouver la nature cholinergique de l'innervation de l'organe électrique de la Torpille.

1. L'organe électrique contient 40 à 100 γ d'ACh par gr. de tissu frais, correspondant à plus de 0,1 % de poids sec.
2. L'excitation des nerfs de cet organe fait apparaître dans le sang efférent une substance que l'on identifie à l'ACh.
3. L'ésérine favorise les effets de l'excitation nerveuse et prolonge la phase descendante d'une simple décharge.
4. L'injection d'ACh dans l'artère afférente de l'organe perfusé déclenche un effet électrogène. Si le liquide de perfusion contient de l'ésérine, il suffit de 2,5 γ d'ACh pour déclencher un tel effet.

Nous assitons donc à une transformation manifeste chez un animal d'un processus chimique (scission enzymatique de l'ACh) en énergie électrique.

Cette constatation, d'une importance capitale, a permis à NACHMANSOHN et MEYERHOF (1941) d'émettre une hypothèse conciliant les théories électriques pures et humorales pures de la transmission des influx nerveux.

D'après ces auteurs (qui se basent sur la constatation de BOELL et NACHMANSOHN (1940), que dans les nerfs, la CHE est

strictement condensée à la surface de la gaine), les différences de potentiel observées pendant l'activité nerveuse peuvent être étroitement liées au métabolisme de l'ACh, près ou à la surface des cellules nerveuses, ce métabolisme n'étant que quantitativement plus important au niveau des synapses.

C'est donc le métabolisme de l'ACh qui créerait à la surface des cellules nerveuses et des synapses les différences de potentiel, la force électro-motrice nécessaire à la transmission des influx nerveux. Il faudrait ainsi modifier l'idée initiale de Dale que l'ACh agit spécifiquement comme médiateur chimique de l'influx nerveux vers les organes effecteurs, en disant avec Nachmansohn (1941) que l'ACh « est étroitement liée aux changements électriques survenant partout à la surface des neurones pendant l'activité nerveuse ».

Le problème est actuellement en plein développement. Il faut l'étudier encore sous de nombreux autres angles, mais la recherche dans ce domaine reste riche en promesses.

Mode d'action de l'acétylcholine

L'ACh agit en se combinant avec une certaine substance située dans ou à la surface de la cellule, cette substance étant le récepteur chimique (« chemoreceptor ») de l'hormone. Cette combinaison suit les lois des réactions monomoléculaires. En effet, la relation entre la concentration de l'ACh et l'action produite par celle-ci peut être exprimée par la formule de Clarck (1926) :

$$k.X. = \frac{100-y}{Y}$$

où

X = concentration de l'ACh
y = action produite
100 = action maximale possible
k = constante

Comme le suggère cette formule, il est possible d'atteindre l'action maximale de l'ACh, où un excès d'hormone reste inactif. L'action maximale est due à la saturation par les molécules de l'ACh de tous les récepteurs chimiques de la cellule réactive, comme l'ont montré Riechert et Musehold (1939), Cette saturation est très vite atteinte, puisque, selon Clark, l'action caractéristique peut être déclenchée sur le cœur de Grenouille lorsque 20.000 molécules d'ACh seulement sont fixées sur *une* cellule. Il en résulte que les récepteurs chimiques de l'ACh n'occupent qu'une minime partie de la surface cellulaire.

La liaison entre l'ACh et la substance réceptrice se fait par échange ionique, la base quaternaire déplacant un ion métalli-

que qui serait, d'après Cicardo et Moglia (1940) l'ion K+. En effet, le nombre d'ions K+ libérés dans la circulation éfférente lors de la contraction acétylcholinique est directement proportionnel à la quantité d'ACh utilisée. Inversement, un excès d'ions K+ peut libérer l'ACh d'un complexe acétylcholinique tissulaire (Brown et Feldberg, 1936 ; Feldberg et Guimarais, 1936).

Le récepteur tissulaire de l'ACh serait donc un composé organopotassique

L'érythrine, le curare ou le venin de Cobra, qui entraînent la paralysie du muscle empêchent l'apparition dans le sang d'ions K+, après application d'ACh : ces drogues provoqueraient donc l'altération du récepteur cellulaire et rendraient plus difficile le déplacement de l'ion potassique par l'ACh.

Par ailleurs, il doit exister toujours, dans ces récepteurs, une certaine quantité d'ACh combinée et inactive, *inattaquable par la CHE,* que l'on peut libérer, mobiliser et rendre active, en la déplaçant par d'autres substances, présentant une forte affinité pour ces récepteurs. Ces substances, outre les ions K+, sont en général des esters de la choline (acétyl-formocholine, acétyl-béta-méthylcholine, éthoxycholine, butyrylcholine, etc). Comme l'ont prouvé Renshaw, Ziff et Green (1938), l'hypotension produite par ces divers corps est de durée identique à celle des mêmes quantités d'ACh, alors que leur destruction par le sang est excessivement différente. D'autre part, bien que la plupart de ces substances ne soient pas attaquées par la CHE, l'ésérine potentialise l'action de tous les composés étudiés. Enfin, l'injection intraveineuse de l'ester éthylique de la choline, non scindé par la CHE, entraîne l'apparition dans le sang cardiaque du Chat, d'une substance hémolabile, possédans toutes les caractéristiques de l'ACh.

*
**

Il est possible de bloquer ou de sensibiliser ces récepteurs acétylcholiniques cellulaires.

C'est ainsi que Clark et Raventos (1936), puis Raventos (1936, 1938) ont montré que certains ammoniums tertiaires et quaternaires possédent des propriétés antagonistes de l'ACh, sans pour cela activer la CHE. Tout au contraire, la plupart l'inhibent. C'est que ces corps entrent en compétition avec l'ACh pour les organes récepteurs, empêchent la fixation et l'action de l'ACh. L'antagonisme par compétition entre une substance et l'ACh dépend de l'affinité de chacune pour le récepteur et de leurs concentrations respectives. En effet, la réaction étant monomoculaire, la loi d'action des masses entre en jeu.

En dehors des *ammoniums tertiaires et quaternaires,* citons

parmi les antagonistes de l'ACh, l'*atropine*, la *curarine, les anesthésiques locaux* (*novocaïne, procaïne*, etc), le *bleu de méthylène*, etc.

Le cas du bleu de méthylène et de certains anesthésiques locaux est particulier, car, tout en exerçant une action antagoniste de l'ACh sur les récepteurs cellulaires, ils en favorisent l'action par l'inhibition de la CHE. Leurs effets s'annulent donc pratiquement.

La sensibilisation des récepteurs acétylcholiniques de la cellule est également le fait d'une série d'ammoniums tertaires et quaternaires, ainsi que de la *Coramine* et du *Cardiazol*. Cette sensibilisation se manifeste également sur des substrats ésérinés et par conséquent ne dépend pas d'une inhibition de la CHE (Emmelin et Kahlson, 1937a).

En résumé, l'on peut dire que l'ACh agit en se combinant par échange ionique avec les récepteurs cellulaires (de nature organopotassique probable). Le complexe ACh + Récepteur provoque la réponse spécifique de l'éffecteur. Mais simultanément, l'ACh est attaquée et inactivée par la CHE. Les produits de scission sont libérés et une nouvelle molécule d'ACh peut se fixer sur les récepteurs et agir.

Certaines substances empêchent la fixation de l'ACh et sont antagonistes de l'ACh ; d'autres drogues favorisent la liaison entre l'ACh et le récepteur et agissent comme synergiques.

Certains auteurs ont voulu rapprocher la structure du récepteur cellulaire de celle des parties actives de la CHE. Nous ne croyons pas que tel soit le cas. En effet, l'ésérine, qui se fixe sur la CHE, n'empêche pas la fixation de l'ACh sur ces récepteurs ; inversement, les ammoniums tertaires, l'atropine, etc, ne se lient pas à la CHE.

Toutefois, la différence entre les structures de chemorecepteurs et de la CHE doit être assez faible, puisque des corps comme les anesthésiques locaux ou le bleu de méthylène présentent la double affinité.

La liaison entre l'ACh et la CHE se fait également par échange ionique (Rœpke, 1937), mais l'ion déplacé paraît être le Ca++ ou un autre ion métallique bivalent.

La distribution du système ACh-CHE parmi les êtres vivants

Le système ACh-CHE est intimement lié à l'idée de mouvement : il appartient donc en propre au règne animal. On ne trouve pas de CHE chez les plantes (Francioli, 1937) ; par

contre, la présence d'ACh dans les végétaux a été démontrée dès 1914 par Dale et Ewins, et plus récemment par Holtz et Janisch (1937) et par Oury et Bacq (1937, 1938).

On constate la présence d'ACh et de CHE chez les Paramécies (Bayer et Wense, 1936 ; Wense, 1937).

Certains des *Invertébrés* possèdent la transmission cholinergique, chez d'autres elle est absente. Le tableau ci-dessous, résume les données actuelles :

Lignée animale	Présence d'ACh dans tissus	CHE dans tissus	CHE dans sang ou liq. coel.	Sensibilité des organes à l'ACh	Transmission cholinergique
Paramécies.....	++	++	—	++	Admissible.
Spongiaires	0	0	—	0	Absente.
Coelentérés.....	0 + chez les Actinies	0	—	0	Absente, sauf chez les Actinies.
Vers	+++	+++	+++	++++	Certaine.
Crustacés	+++	++	+ ds. cert. espèces	+, mais masquée	Admissible.
Insectes	0	++	++	non explor.	Admissible.
Siponculiens....	+	+++	++	++	Certaine.
Echinodermes...	+++	+++	+++	++++	Certaine.
Mollusques	++++	++++	++++	++++	Certaine.
Tuniciers	0	++	0	?	Douteuse.

Tous les *Vertébrés* étudiés présentent dans la plupart de leurs organes le système ACh-CHE. En général, les taux d'ACh et de CHE sont parallèles, une teneur élevée en hormone entraînant une activité accrue du ferment.

Chez les embryons de Grenouille, on constate une activité cholinestérasique dès le stade de 2 à 4 blastomères (Youngstrom, 1938)). Elle est faible au début, puis s'élève brusquement. Il en est de même pour les embryons de Poulet (Ammon et Schutte, 1935) et chez les Mammifères (Nachmansohn, 1938).

Peu avant la naissance, le taux cholinestérasique des divers organes du fœtus est plus élevé que chez l'adulte, mais cette différence n'est qu'apparente, car elle est due à la disproportion relative entre les terminaisons nerveuses et les organes.

Chez l'adulte, les plus fortes concentrations de CHE se rencontrent dans le système nerveux central et périphérique, dans les plaques motrices, dans les surrénales et dans les parois du tube digestif. La plupart des autres organes possèdent également des taux notables de CHE.

Comme nous avons travaillé surtout la CHE sanguine, nous accorderons à celle-ci une attention particulière.

La cholinestérase dans le sang

C'est dans le sang que l'on a découvert en premier lieu la saponification enzymatique de l'ACh (Lœwi et Navratil, 1926 ; Plattner, 1926). C'est pourquoi la CHE du sang est la mieux

connue de toutes. De plus, le sang est chez l'Homme le tissu le plus accessible à l'exploration. Aussi le nombre de travaux sur la CHE sérique ou globulaire est-il très important.

On a trouvé un ferment hydrolysant l'ACh tant dans les globules rouges que dans le sérum. Mais la distribution quantitative de la CHE entre les globules et le sérum, si elle est pratiquement constante dans chaque espèce, est très variable d'une espèce à l'autre.

C'est ainsi que STEDMAN et STEDMAN (1935) montrent que la CHE est bien plus abondante dans le sérum que dans les globules rouges chez le Chat, le Canard et l'Oie. Chez le Chien, l'activité de la CHE sérique est particulièrement forte : elle représente 80 à 90 % de l'activité totale du sang (AMMON 1935). Par contre, chez le cheval la distribution est à peu près équivalente et le rapport CHE sérique/CHE globulaire est de 4/3, d'après AMMON (1935).

D'autres espèces présentent des rapports contraires : les hématies du Mouton, de la Chèvre, du Cobaye, contiennent plus de CHE que le sérum. Le cas du Bovidé est particulièrement plus frappant : l'activité enzymatique est 8 à 12 fois plus grande dans les globules que dans le sérum. Cette activité sérique est tellement basse que certains auteurs, travaillant avec des méthodes peu précises, l'ont niée.

Chez l'homme, le rapport CHE globulaire/CHE sérique varierait normalement entre 2,2 et 2,8 pour SCHALLER (1942), alors que ALLES et HAWES (1940) trouvent une différence moindre. Pour ces auteurs le rapport CHE sérique/CHE globulaire serait de 0,590. En pratique, l'on peut dire que chez l'homme, 60 à 65 % de la scission de l'ACh incombe aux globules et 35 à 40 % au sérum.

L'addition des hydrolyses dues au sérum et aux érythrocytes donne l'activité hydrolytique du sang total. Le plasma rendu incoagulable par l'héparine (qui n'a pas d'effet sur la CHE) a le même pouvoir saponifiant que le sérum. C'est dire que le *fibrinogène ne contient pas de CHE.*

Les globules blancs sont également dépourvus de CHE (GINSBERG, KOHN et NECHELES, 1938 ; ALLES et HAWES, 1940 ; FEGLER, KOWARZYK et SZPUNAR, 1938). Les globules de pus n'ont pas de pouvoir saponifiant de l'ACh (GINSBERG et coll.) pas plus que les débris d'érythrocytes obtenus par centrifugation après l'hémolyse (ALLES et HAWES, 1940).

La CHE globulaire diffuse donc dès que l'on rompt les membranes cellulaires. Tant que celles-ci sont intactes, le lavage, même répété, des hématies par du sérum physiologique ne peut l'enlever. Ce fait combat nettement l'hypothèse d'une fixation du ferment sur la membrane cellulaire (STRAUB et son école).

La CHE n'est pas liée à l'hémoglobine : les hématies du sang artériel et veineux scindent l'ACh avec la même rapidité. L'oxyhémoglobine cristallisée n'a aucune action sur l'ACh (FEGLER

et coll., 1938). De même Schaller (1942) a pu observer qu'il n'existait pas de rapport entre la teneur en hémoglobine et l'activité cholinesterasique des globules.

La cholinestérase sérique

Le pouvoir cholinestérasique du sérum est extrêmement variable dans les diverses espèces. Par ordre décroissant, Lucas, Hall et Ettinger (1935), indiquent cette activité dans la série suivante : Homme, Cheval, Chien, Cobaye, Chat, Poulet, Lapin. L'activité de la CHE sérique est basse chez le Porc, très faible chez le Bœuf et nulle chez le Mouton.

Une liste analogue est fournie par Stedman, Stedman et White (1933), toujours en ordre décroissant : Singe, Homme, Cheval, Chien, Cobaye et Chat. Possèdent une CHE sérique peu active : Porc, Daim, Souris, Pigeon et Canard. On ne peut déceler d'activité par la méthode de Stedman chez la Tortue, le Lapin, l'Oie, le Rat, le Bœuf, le Mouton et la Grenouille.

Reprenant cette étude par une méthode plus précise et plus sensible, Hall et Lucas (1937) donnent les valeurs suivantes : Souris, Cheval, Homme, Chien, Cobaye, Chat, Poule, Lapin, Carpe, Porc ; chez le Bœuf et le Mouton l'activité cholinestérasique du sérum est pratiquement nulle.

Nous n'avons exploré que quelques espèces et observons les taux décroissants suivants, en concordance avec les précédents auteurs : Cheval, Homme, Cobaye, Lapin. Pas d'hydrolyse par le sérum de Bœuf.

Localisation de la CHE dans le sérum. — Dès 1928, Galehr et Plattner ont pu observer que l'activité cholinestérasique était liée à la fraction albuminique du sérum. La fraction globulinique, ainsi que les fragments des hématies hémolysées ne saponifient pas l'ACh. Fegler, Kowarzyk et Szpunar (1938) ont supposé que la CHE du sérum faisait partie des sérum-albumines, mais ils ont rapidement abandonné cette idée, car ils n'ont pas été à même de découvrir, en comparant les taux chez les diverses espèces animales, une relation, même éloignée, entre les taux des sérum-albumines et de la CHE sérique. C'est ainsi que le Chien et le Cheval présentent approximativement un taux identique des sérum-albumines, alors que l'activité cholinestérasique du sérum de cheval est 15 fois plus forte que celle du chien.

D'ailleurs, Vahlquist (1935) a pu montrer que la CHE sérique migrait séparément des albumines et des globulines dans les expériences de cataphorèse.

Ce n'est que tout récemment que Faber (1943) a pu montrer que la relation entre ces deux éléments sériques réside dans leur lieu de naissance commun : la cellule hépatique.

La cholinestérase globulaire

Comme l'ont montré Alles et Hawes (1940, 1941), la CHE globulaire est d'un type différent de celui de la CHE sérique. Elle a également une autre origine (Sabine, 1940).

On peut différencier les deux enzymes par les caractères suivants :

	CHE sérique	*CHE globulaire*
Optimum de concentration de substrat.	Maximum d'activité avec de hautes concentrations de substrat (0,01 M)	Maximum d'activité avec de basses concentrations de substrat (0,00001 M)
Influence du pH	pH optimum vers 8,2 – 8,3	Pas de pH optimum. Peu affectée par de faibles variations du pH
Effet d'un excès de substrat.	nul	inhibition
Effet d'une solution de NaCl à 0,9% ou plus	légère inhibition	légère activation
Action sur l'acétyl-B-métylcholine	pas d'hydrolyse	faible hydrolyse
Action sur la thréo-B-diméthylacétylcholine	pas d'hydrolyse	hydrolyse moyenne

L'activité des deux cholinestérases est donc très différente. Si l'on étudie le substrat naturel (ACh), on note que la CHE globulaire possède un rôle plus adapté aux conditions physiologiques, puisqu'elle hydrolyse l'ACh à faible concentration, qu'elle n'est pas affectée par de faibles variations du pH et est inhibée par un excès de substrat.

Structure chimique de la CHE

Nous ne connaissons que fort peu de chose de la structure chimique de la CHE. Il est fort probable que, comme toutes les estérases, elle se compose de deux éléments : un groupement actif et un support spécifique.

Kraut et Pantschenko-Jurewicz (1935) ont ainsi décrit la structure des estérases hépatiques :

L'estérase se composerait d'un catalyseur spécifique, groupement chimique défini ou *agon*, lié à un « porteur » de nature colloïdale, donnant au ferment la spécificité différentielle (*phéron*). La liaison entre les deux éléments formerait le ferment proprement dit ou *symplex*. Cette terminologie qui appartient à Wilstaetter et Rohdewald (1934) n'est pas une vue de l'esprit : il suffit de prendre d'autres activités fermentaires comme exemple ; ainsi : hémine + globuline = hémoglobine, dont le pouvoir est multiplié par rapport à l'agon isolé, qui est l'hé-

mine (Kuhn et Braun, 1926). Les différences entre les diverses hémoglobines seraient dues aux diversités des phérons dont dépend la spécificité précise du système fermentaire.

La même structure s'applique au ferment jaune de Warburg où la flavine représente l'agon et l'albumine à grand poids moléculaire, le phéron.

En ce qui concerne les estérases, Kraut et son collaborateur considèrent qu'en dehors de ces deux éléments essentiels il existe, dans le complexe fermentaire, un troisième facteur assurant la stabilité de l'ensemble. Nous reviendrons plus loin sur ce troisième facteur qui doit également jouer un rôle important pour la CHE.

Poursuivant leurs recherches, ces auteurs arrivent à prouver que l'agon des estérases est identique dans l'estérase hépatique et la lipase pancréatique. Seul le phéron les différencie. Cet agon est très labile et devient inactif si l'on ne met pas à sa disposition une quantité suffisante de phéron. C'est ainsi que l'on peut expliquer l'inactivation brusque des préparations au cours des purifications très poussées.

Il ne semble pas que le phéron des estérases soit de nature albuminique, car on peut purifier les préparations de ces ferments jusqu'à rendre la réaction de Millon négative, sans diminuer l'activité enzymatique.

Les effets des inhibiteurs peuvent porter sur l'agon, le phéron ou sur la liaison des deux groupements. Ainsi, la quinine agit sur le phéron, car elle n'inhibe pas l'estérase hépatique, riche en phéron, alors que la lipase, assez pauvre en phéron, est inhibée par l'alcaloïde. L'atoxyl s'attaquerait à l'agon, car ses effets sont inverses de ceux de la quinine.

Enfin, les aldéhydes et les amines agiraient surtout sur la liaison agon-phéron.

Nous avons tenu à donner en détail les résultats de Kraut et Pantschenko, car il est fort probable, mais non certain, que la CHE, qui s'intègre si intimement dans le groupe des estérases (puisque la pseudo-CHE scinde les substrats des estérases et même des lipases, quoique à un moindre degré), soit bâtie selon le même plan.

Le troisième élément de la molécule fermentaire, qui sert de liaison entre l'agon et le phéron, pourrait être, comme l'ont suggéré Pantschenko et Kraut (1936), l'acide ascorbique.

Nos recherches sur les effets de la vitamine C sur la CHE nous ont permis de proposer l'hypothèse d'un rôle métabolique que jouerait l'acide ascorbique envers la CHE.

Comme nous l'exposerons en détail plus loin, nous avons pu montrer que la vitamine C réactive in vivo une CHE préalablement inhibée, mais qu'elle n'agit pas (sauf en ce qui concerne la CHE du muscle de Grenouille) sur une CHE normalement active.

Comme l'acide ascorbique ne fait pas partie de la molécule active du ferment, il est permis de supposer que le rôle de liaison lui soit dévolu.

PRESENCE DU RADICAL SH DANS LA MOLECULE DE LA CHE.

Travaillant sur une préparation concentrée de CHE, extraite de l'organe électrique de la Torpille, NACHMANSOHN et LEDERER (1939) constatent que la dialyse de cette préparation contre de l'eau distillée inactive partiellement le Ferment (de 30 % environ). Cette préparation inactivée retrouve son activité première si on lui ajoute un peu du dialysat.

De même, si l'on inactive le ferment par précipitation de l'extrait brut par le sulfate d'ammonium à saturation, on peut lui rendre son activité en ajoutant un peu de l'eau mère du précipité protéinique.

D'autre part, ces auteurs ont trouvé une série de corps capables de réactiver ces préparations. Ce sont : le glutathion, la cystéine, la cystine, la glycine, le CNH et la salycylaldoxime.

La réactivation n'étant pas liée à un seul corps spécifique, les auteurs ont abandonné l'idée d'un Co-Ferment.

Ces composés réactivateurs forment des complexes avec les métaux lourds, particulièrement avec le Cu. On peut supposer que le système enzymatique contiendrait un groupement actif facilement inactivé par les métaux. La réactivation par ces corps serait aussi due à l'élimination de traces de ces métaux. L'inactivation par dialyse s'expliquerait par le fait que la CHE brute est protégée contre l'action de ces métaux par un composé, que la dialyse enlève.

Or, la réaction au nitro-prussiate est positive dans le dialysat et la réactivation spécifique par les corps possédant le radical SH— fait penser que le groupement SH— jouerait un rôle actif dans la structure de la CHE.

En fait, l'iode, le Cu, l'acide maléique, l'alloxane inactivent la CHE comme la dialyse. Or, tous ces réactifs se combinent au groupement SH—. C'est ainsi que l'on pourrait expliquer l'inactivation de l'enzyme.

L'acide ascorbique ne réactive pas une CHE inhibée par dialyse. Il n'intervient donc pas à cette place dans le ferment, mais ailleurs.

PRESENCE DE METAUX DANS LA CHE

Les travaux de MASSART et DUFAIT (1939) ont montré qu'un des éléments, qui passent dans le dialysat, et qui concourt par son absence à inactiver la préparation, est l'ion Ca^{++}. D'autres ions peuvent réactiver l'enzyme privé de Ca. Ce sont tous des ions bivalent chargés positivement : Mn^{++}, Mg^{++}, Sr^{++}.

Il semble donc, et nos recherches ont confirmé ces données, que le ferment contient dans sa molécule ou bien qu'il est lié fonctionnellement à un cation bivalent, dont la présence est indispensable à sa fonction normale.

Précisons encore que le ferment dialysé ne perd que 30 à 50 % de son activité et que, par conséquent, tant le radical SH— que l'ion Ca++ doivent jouer un rôle, non pas dans la liaison du substrat au ferment, mais dans la rapidité de l'action enzymatique.

Origine de la cholinestérase

1. *CHE sérique.*

Faber (1943) a montré qu'il existe une relation étroite entre les sérums-albumines et la CHE sérique.

1. La CHE n'est pas entraînée par la précipitation des globulines sériques par le sulfate d'ammonium à demi-saturation, mais est précipitée avec la fraction albuminique par des solutions plus saturées de ce réactif.

2. Le dosage des sérum-albumines et celui de la CHE donnent des résultats parallèles. La variation inter-individuelle se fait dans le même sens pour les sérum-albumines et pour la CHE.

3. Les variations des sérum-albumines sont suivies par celles de la CHE sérique, cependant avec un certain retard. Ainsi, la chute de l'activité CHE suit de peu la diminution des sérum-albumines, mais celles-ci remontent, lors de l'amélioration clinique, avant la CHE.

Tous ces arguments parlent en faveur d'une liaison étroite entre la CHE sérique et les sérum-albumines.

Mais les expériences d'électrophorèse de Vahlquist (1935) montrent que la migration est différente pour la CHE et les sérum-albumines ; on doit en conclure que le ferment n'est pas directement lié aux albumines sériques.

Il est plus juste de supposer que la CHE et les sérum-albumines naissent dans la même cellule. Cette supposition donne en particulier l'explication de la constance du rapport sérum-albumine/CHE. Ce rapport peut varier en cas de changement brusque des albumines sériques et cela parce que ces albumines sont continuellement formées et détruites, alors que la CHE sérique est un élément stable du sang. C'est également cette stabilité du ferment qui lui donne une certaine « inertie », dont nous venons de parler.

L'origine commune de la sérum-albumine et de la CHE ne peut se trouver que dans un seul organe : *le foie.*

En fait, les affections du foie donnent à la fois une baisse des albumines et de la CHE du sérum (Mcardle, 1940).

Des faits expérimentaux viennent confirmer nos suppositions : ainsi,

1. Henriques et Klausen (1932) montrent que la nécrose phosphorée du foie entraîne une baisse brutale des albumines sériques. Nous-même (Frommel, Herschberg et Piquet, 1944) avons observé que, dans l'intoxication phosphorique du Cobaye, on assite à une chute brutale de la CHE sérique.

2. D'autres variations des sérum-albumines sont accompagnées de variations parallèles de la CHE :

Dans les *œdèmes par sous-alimentation,* l'inanition protéinique entraîne la chute des sérum-albumines, alors que les globulines restent inchangées (Weech, 1938-39). Or, divers auteurs ont montré que dans l'inanition prolongée (cancers, cachexie tuberculeuse), il y a également chute de la CHE sérique (Milhorat, 1937, Scoz et Cattaneo, 1937, Mahal, 1938, etc).

Il faut une inanition assez prolongée pour provoquer la chute des sérum-albumines et de la CHE, c'est pourquoi Milhorat ou Mahal n'ont pas pu observer de baisses cholinestérasiques après le jeûne d'une semaine.

On peut donc dire que l'alimentation protéinique influence le taux de la CHE du sérum.

2. *CHE globulaire.*

Sabine (1940), en étudiant les CHE du sang, globulaire et sérique, au cours des affectations hématologiques, a pu observer que seules les anémies avec atteinte de la moëlle osseuse présentaient des déficiences de la CHE globulaire, alors que la CHE sérique restait peu modifiée.

Les observations de Sabine sont intéressantes par certains détails.

En effet :

1° Tant que la moëlle osseuse n'est pas atteinte, elle produit une quantité globale de CHE égale à celle des conditions normales. Dans les anémies sans lésions de la moëlle, les globules sont surchargés en CHE et cela d'autant plus que leur nombre est restreint.

Inversement, dans la polycythémie, la charge de chaque globule en CHE est réduite et cela d'autant plus que leur nombre est élevé.

2° Par contre, chez les malades avec lésion de la moëlle osseuse (anémie de Biermer, par exemple), le taux de la CHE baisse dans les globules. Les *bierméniens* ne peuvent « surcharger » en CHE leur petit nombre de globules. Il leur manquerait un principe actif de formation cholinestérasique, principe qu'ils acquièrent rapidement par l'hépatothérapie.

La CHE présente donc deux origines, correspondant chacune

à un type enzymatique différent. Il est impossible d'admettre, comme certains auteurs l'ont suggéré, un passage de la CHE globulaire dans le sérum, car

— la CHE sérique et la CHE globulaire ont des origines différentes ;

— elles réagissent différemment au cours des diverses affections.

— elles sont d'un type enzymatique différent ;

D'autre part, dans les ictères homolytiques, on ne constate pas de hausse de la CHE sérique.

III. On a supposé que la CHE pouvait également naître dans le système réticulo-endothélial. Cela ne semble pas être le cas, puisque le blocage de ce système par l'encre de Chine, pas plus que l'extirpation de la rate ou ces deux interventions simultanées, ne modifient le taux cholinestérasique du sang. (Ginsberg, Kohn et Necheles, 1937).

Cinétique de la cholinestérase

Suivant la théorie de Michaelis et Menten (1913), les enzymes se combinent avec le substrat pour former un complexe (ES) qui, à son tour, se dissocie en enzyme (E) et substrat (S) ou ses produits de scission (PS).

On peut écrire :

$$E + S = ES \rightarrow E + PS$$

La constante de dissociation du complexe ES est donnée par l'équation :

$$Ks = \frac{(S) \cdot (E)}{(ES)}$$

La théorie de la vitesse de réaction (production de PS) veut que cette vitesse soit strictement proportionnelle à la concentration du complexe ES.

Pour une quantité donnée d'enzyme, la vitesse de réaction approche du maximum avec de hautes concentrations de substrat, car, dans ces conditions, presque toutes les molécules d'enzyme engagées sont sous forme de ES.

Rappelons encore que la constante de dissociation est inversement proportionnelle à l'affinité du substrat pour le ferment et celle-ci peut donc être formulée

$$1/Ks$$

En ce qui concerne la CHE, tous les auteurs qui ont étudié son action sur l'ACh constatent que si l'on met en ordonnée l'inverse de la vitesse d'hydrolyse (1/v) et en abscisse la dilution du substrat ($1/s.10^{-3}$), on obtient une ligne droite pour la réaction (Rœpke, 1937).

D'autres auteurs (Hall et Lucas, 1937 ; Vahlquist, 1935, etc.) ont également montré que la réaction entre l'ACh et son ferment est représenté par une ligne droite : la quantité d'ACh hydrolysée est directement proportionnelle à la concentration de l'enzyme.

Dans les conditions où l'enzyme se trouve en présence (conditions du dosage chimique) d'un excès de substrat,

la réaction d'ACh-CHE est monomoléculaire : $y = k.X$

Ainsi, dans les conditions de forte quantité de substrat, l'hydrolyse dépend de la concentration de l'enzyme et non de celle du substrat.

Par contre, si l'on étudie cette réaction par des méthodes biologiques (Clark et Raventos, 1937 ; Clark, Raventos, Stedman et Stedman, 1938), c'est-à-dire à basse concentration de substrat, on peut voir que la quantité d'ACh intervient également dans la réaction et qu'il y a proportionnalité de la réaction avec cette concentration ; la formule de réaction monomoléculaire, doit subir un coefficient de rectification :

$$(\text{conc.ACh})^{0,83} \text{ ou } y = k\ (X)^{0,83}$$

Il en découle que la destruction de faibles doses d'ACh par la CHE est plus lente que celle de fortes doses.

Nous devons donc considérer la réaction d'ACh-CHE comme une *réaction monomoléculaire complexe :* tant que l'on travaille avec des concentrations d'ACh supérieures à 0,01 % (conditions de dosage bio-chimique), la réaction reste strictement monomoléculaire et la destruction du substrat reste uniquement dépendante de la concentration de l'enzyme

$$Y = KX$$

Mais au-dessous d'une concentration d'ACh de 0,001 % (conditions du dosage biologique), ce facteur intervient également et la réaction se poursuit selon la formule :

$$Y = k\ (X)^{0,83}.$$

Bender (1939), reprenant cette étude par une méthode biologique très sensible, confirme ces données.

En effet, au fur et à mesure de la destruction enzymatique du substrat, la fonction de la CHE se ralentit : de sorte que, comme l'ont montré Clark et Raventos, le temps d'hydrolyse double si l'on passe d'une solution d'ACh de 10^{-6} à 10^{-9}.

Des quantités décroisantes d'ACh peuvent rester plusieurs secondes en contact avec l'enzyme sans être détruites complètement. Par exemple, une concentration de sérum à 90 %, agissant sur v/cc d'ACh, en hydrolyse pratiquement sans délai 0,9 v, mais les 10 derniers % subissent une scission enzymatique beaucoup plus lente, la courbe de l'hydrolyse s'inclinant vers l'horizontale.

Ainsi, d'après Bender, des quantités infinitésimales d'ACh peuvent rester non hydrolysées et circuler dans le sang sans êtres détruites.

Les causes de cette modification de l'hydrolyse avec de faibles concentrations de substrat résident dans le fait que les produits de scission, en particulier la choline, exercent une inhibition compétitive sur la CHE. Rœpke (1937) a montré que l'affinité pour la CHE de la choline est de 75, si celle de l'ACh est de 100. Tant que l'ACh est en quantité abondante, elle se fixe de préférence à la choline sur les parties réceptrices du ferment, mais dès que les faibles concentrations d'ACh et des concentrations croissantes de choline se rencontrent sur les récepteurs du ferment, la compétition s'établit, le ferment est partiellement inhibé et cela d'autant plus que la choline continue à s'accumuler par la scission de plus en plus ralentie de l'ACh.

La choline à la concentration de 0,1 % inhibe la CHE de 50 % et une concentration de 0,01 % donne encore une inhibition de 20 %.

D'autre part, l'acide acétique libéré acidifie le milieu et l'on sait que la CHE perd 1/3 de son activité à pH 6,8.

Clark et ses collaborateurs (1938) ont essayé de trouver, dans ce retard d'hydrolyse avec les faibles dilutions d'ACh, un argument contre la transmission neuro-humorale, dont la justification est basée sur les recherches de Marnay et Nachmansohn (1937, 1938, 1939).

A notre avis, la correction de $(X)^{0'83}$ ne doit pas jouer in vivo. En effet, elle est due à l'accumulation des produits de scission immédiatement sur le lieu de la réaction CHE-ACh. Or, cette accumulation ne se produit que dans la période tardive de la réaction, et l'activité CHE in vivo ne se compte que par millièmes de seconde. D'autre part, in vivo encore, les produits de scission sont aussitôt enlevés par le courant circulatoire qui les éloigne des récepteurs fermentaires et les neutralise.

Donc, les calculs de Nachmansohn semblent se justifier si l'on transpose les expériences faites in vitro à l'être vivant et surtout si l'on ne tient compte que de la viesse initiale (« initial velocity ») de l'activité fermentaire, qui seule entre en ligne de compte chez le vivant.

La leçon à tirer de ces expériences est que, lorsque l'on veut explorer l'activité d'un organe au point de vue CHE, il faut étudier la destruction de 50 % de l'ACh mise en jeu et non davantage. Cette leçon est, en général, observée par tous les auteurs.

Mode d'action de la cholinestérase

Il est plus que probable que la liaison entre l'acétylcholine et son ferment soit identique à celle de cette hormone à ses récepteurs organiques.

C'est pourquoi un grand nombre d'auteurs se sont penchés sur la question.

Les recherches de Clark et Raventos (1938) ont permis de constater que le ferment se localise à la surface des cellules. Pour le cœur de Grenouille (oreillette), on a même pu calculer la densité des particules fermentaires, soit une par 10.000 A^2. La totalité des centres enzymatiques d'une cellule de l'oreillette de Grenouille atteindrait le chiffre de 24.000.000. La concentration serait beaucoup plus grande dans les muscles striés.

L'ACh est fixée par les centres enzymatiques, molécule par molécule, dans les conditions optimales de concentration de substrat ; mais in vivo, en moyenne une molécule d'ACh se lie à 30 centres enzymatiques.

La liaison entre l'ACh et son ferment se fait par un échange ionique.

En effet, les travaux de Hunt et Renshaw (1925, 1926) sur la bétaïne et ses esters donnent des preuves certaines que les composés choliniques doivent fournir des ions positivement chargés dans une solution à pH normale pour exercer une action physiologique. La bétaïne, qui est électriquement neutre à ce pH, n'a pas d'action biologique, alors que ses esters qui fournissent des cations en solution aqueuse possèdent l'activité physiologique de la choline.

zwitterion de la bétaine (neutre)

$(CH^3)_3\,N + CH^2\,coo -$

Ester de la bétaïne (actif)

$(CH^3)_3\,N + CH_2\,cooR$

Ce fait suggère que l'union entre les substances choliniques et les récepteurs enzymatiques ou tissulaires a un caractère ionique (« salt-like »), probablement en remplaçant les ions Na, K ou Ca de certains protéinates cellulaires.

Welch et Rœpke (1935, 1936) ont étudié la possibilité qu'ont l'ACh, l'acétylphosphocholine et l'acétylarsénocholine de déplacer les ions Na ou Ca des permutites sodiques ou calciques. Cette propriété de déplacement est plus faible pour ces deux derniers corps, proportionnellement à leur vitesse de scission par la CHE.

Cet échange ionique est d'autant plus probable, comme l'ont montré Ing et Wright (1931, 1933), que les sels de composés onium quarternaires (et, par conséquent, les sels du groupe choline) sont de forts électrolytes, comparables aux sels de métaux alcalins.

D'après ces auteurs, l'échange ionique se ferait suivant le modèle de la permutite.

La présence d'ions étrangers peut perturber cette fixation et inhiber le ferment. Rœpke (1937) l'a montré pour l'iode, le brome, Frommel, Herschberg et Piquet (1944) pour une série d'autres ions.

De même, d'autres substances, possédant une plus ou moins grande affinité pour la CHE, peuvent venir remplacer l'ACh au

niveau du ferment et inhiber par là l'activité de celui-ci sur le substrat naturel.

On peut imaginer la structure de la CHE de la manière suivante :

La molécule de l'enzyme présenterait 2 pôles d'attraction. L'un pour le groupement ester, l'autre, chargé négativement, servant de fixateur du substrat.

L'éloignement stéréochimique du radical esterifiant du groupement onium, servant de fixateur, pourrait rendre la fixation sur le ferment difficile ou impossible (ex. acétylméthylcholine, acétylhomocholine, etc.).

D'autre part, une profonde modification dans le groupe de fixation rendrait celle-ci impossible.

Inhibitions de la cholinestérase

Nous avons essayé de schématiser la structure de la CHE, en lui conférant, en dehors de la masse protéinique, deux pôles d'attraction pour le substrat :

— le premier pôle est un *pôle de fixation,* chargé négativement. Il attirerait les radicaux -onium.

— le second, pôle d'activité estérasique, chargé positivement, attirerait les radicaux estérifiant la base quaternaire.

L'inhibition de l'activité cholinestérasique pourrait se faire de plusieurs façons :

1. L'inhibiteur, possédant une structure proche de celle de la choline, peut se fixer plus ou moins rapidement sur le pôle de fixation du ferment. Il empêche ainsi l'ACh de se fixer sur ce pôle, car son affinité pour l'enzyme est plus grande que celle du substrat naturel. L'inhibiteur et le substrat entrent en compétition pour le groupement fixateur du ferment : c'est ce que les auteurs anglais ont appelé la « competitive inhibition », terme que l'on pourrait traduire par « *inhibition par compétition* ».

2. L'inhibiteur se lie uniquement au pôle d'activité estérasique. Le substrat naturel peut encore se lier au pôle de fixation, mais l'ester ne sera plus saponifié. C'est ce que nous appellerons l'*inhibition par immobilisation.* (« Non competitive inhibition » des auteurs anglais).

Ces deux sortes d'inhibitions sont reversibles ; on peut séparer le complexe enzyme-inhibiteur par dialyse. Parfois, l'inhibition cesse parce que l'inhibiteur est, à son tour, inactivé par l'estérase.

Nous opposerons l'idée d'inhibition à celle d'inactivation. Sous le terme d'inactivation, nous entendons le ralentissement ou l'empêchement de l'action enzymatique, sans que l'un ou l'autre pôle ne soient occupés par l'inhibiteur.

Il existe également plusieurs types d'inactivation :

1. *Inactivation partielle et reversible.*

On peut inactiver le ferment en supprimant un activateur physiologique.

Ainsi, les composés immobilisant le Ca (NaF, oxalates, citrates, etc.) inhibent l'activité de la CHE, car le Ca est considéré (Massart et Dufait, 1939) comme un activateur physiologique de la CHE.

Ainsi encore, sont inactivateurs de la CHE les substances qui bloquent le radical -SH : alloxane, acide maléique, i^2, Cu, etc., car comme l'ont montré Nachmansohn et Lederer (1939), ce radical est nécessaire à la fonction enzymatique.

Ainsi toujours agit le scorbut, car nous avons pu montrer (Frommel, Herschberg et Piquet, 1943, 1944) que la vitamine C est également un activateur physiologique de la CHE.

Le caractère général de cette inactivation partielle et reversible est de n'être jamais totale (elle atteint, en général, 30 à 50 %) et de disparaître dès que l'on ajoute en suffisance l'élément soustrait.

2. *Inactivation partielle irréversible.*

Les inhibitions et l'inactivation décrites se produisent par l'attaque des formations actives du ferment par un élément toxique. Celles dont nous allons maintenant parler portent sur les protéines non spécifiques de l'enzyme.

C'est le cas de l'inactivation, non spécifique, que produit l'adjonction de métaux divers aux préparations fermentaires : nous avons pu montrer (Frommel, Herschberg et Piquet, 1943, 1944) que les ions inorganiques tels l'Au, l'Ag, le Hg, le Pb, etc, etc.) inhibaient la CHE proportionnellement à leurs concentrations.

Nos essais de séparer l'inhibiteur du ferment par dialyse contre l'eau distillée n'ont jamais été couronnés de succès. L'inhibition produite par ces métaux reste stable pendant de longues périodes et peut donc être considérée comme irréversible.

3. *L'inactivation totale irréversible.*

Elle se fait par destruction du ferment, telle que l'on peut l'obtenir par des agents physiques (ébulition etc.) ou par précipitation par les acides forts, trichloracétique, phosphotungstique, etc.

Citons encore des inactivations fermentaires produites par la présence d'ions chargés positivement, qui peuvent perturber la fixation de l'ion - *onium* sur le pôle de fixation (car, comme l'ont montré Renshaw et ses collaborateurs, ainsi que Rœpke

et Welch (1937), cette fixation du substrat sur l'enzyme se fait par un échange cationique, l'ion - onium chargé positivement déplaçant un cation (Na, Ca, K) de la molécule fermentaire).

L'inhibition par compétition

L'inhibiteur, dans ce cas, se substitue au substrat naturel. On doit alors remplacer la formule :

$$E + S = ES$$

par $E + I = EI$, le complexe EI étant peu dissociable.

Le degré d'inhibition sera donné par la formule :

$$i = EI / E \quad (i = \text{inhibition partielle}).$$

Un exemple typique de l'inhibition par compétition nous est fourni par la *choline*. La choline inhibe la CHE, surtout en présence de faibles concentrations d'ACh, alors qu'avec de fortes concentrations d'ACh, l'hydrolyse se passe comme en absence de choline. C'est que dans la compétition pour le pôle de fixation de l'enzyme, l'ACh possède une plus forte affinité que la Choline.

D'après Rœpke (1937), la constante de dissociation du complexe ES ou EI est calculée d'après la formule :

$$Ka = \frac{Ks \cdot (I)}{Ki} + Ks$$

Où, Ka = concentration de l'ACh qui donne la moitié du maximum d'hydrolyse en présence de l'inhibiteur.

Ks = constante de dissociation du complexe ACh-CHE.

Ki = constante de dissociation du complexe Inhibiteur-CHE

I = concentration de l'inhibiteur.

En faisant varier les concentrations de I, on peut tirer pour la choline :

$$Ki = 10{,}7 \times 10^5$$

Donc l'affinité de la choline pour la CHE est presque aussi forte que celle de l'ACh.

Par ce même procédé, on établit les constantes de dissociation et l'affinité d'une série de corps entraînant une inhibition compétitive (Rœpke, 1937).

Substance	Ks	Ki	Constante d'affinité 1 K/s ou Ki	Affinités comparées à ACh=100
ACh	$8{,}0.10^{-5}$		$1{,}25.10^{4}$	100
Acétylarsénocholine	$8{,}5.10^{-5}$		$1{,}19.10^{4}$	95
Butyrylcholine	$8{,}8.10^{-5}$		$1{,}14.10^{4}$	91
Choline		$10{,}7.10^{-5}$	$9{,}4.10^{3}$	75
Arsénocholine		$10{,}2.10^{-5}$	$9{,}8.10^{3}$	78
Acétyl-méthylcholine		$19{,}3.10^{-5}$	$5{,}2.10^{3}$	42
Tétraméthyl ammonium		$17{,}6.10^{-5}$	$5{,}7.10^{3}$	46
KCl, NaCl, NH^4Cl		$1{,}4.10^{-3}$	$7{,}1.10^{2}$	6
Tropine		$1{,}6.10^{-5}$	$7{,}1.10^{2}$	880
l-Hyosciamine		$7{,}4.10^{-6}$	$1{,}3.10^{5}$	1.040
d-Hyosciamine		$2{,}5.10^{-6}$	$4{,}0.10^{5}$	3.200
Atropine		$4{,}8.10^{-6}$	$2{,}1.10^{5}$	1.680
Carbaminoylcholine		$3{,}8.10^{-5}$	$2{,}6.10^{4}$	208
Eserine		26.10^{-10}	$3{,}8.10^{8}$	3.000.000
Prostigmine		$9{,}7.10^{-10}$	$10{,}3.10^{8}$	8.000.000

Si l'on ne considère que la dernière colonne, où sont indiquées les affinités comparées des diverses substances, on comprendra facilement que le substrat naturel n'a qu'une affinité relativement faible pour la CHE, alors que l'inhibiteur considéré comme le plus puissant (la prostigmine) présente une affinité pour cet enzyme de 80.000 fois supérieure. La compétition entre l'ésérine ou la prostigmine et l'ACh pour la CHE se terminera invariablement par l'inhibition totale du ferment, s'il y a suffisamment de molécules de l'inhibiteur pour saturer toutes les particules actives du ferment. L'inhibition sera partielle si le nombre de molécules d'ésérine est insuffisant et que l'ACh trouve des particules de ferment libres.

L'effet inverse se rencontre avec des inhibiteurs dont l'affinité est moindre que celle du substrat naturel. C'est l'ACh qui se fixe la première sur le substrat en présence de choline, d'arsénocholine ou de tetraméthylammonium. C'est pourquoi l'inhibition ne se fera sentir qu'avec de faibles concentrations d'ACh et de fortes concentrations d'inhibiteurs, car rappelons que la réaction fermentaire obéit à la loi d'action des masses.

L'affinité des divers corps pour la CHE ne préjuge en rien de la rapidité d'hydrolyse de ces corps. La butyrylcholine qui est bien plus rapidement saponifiée que l'ACh présente une moindre affinité pour la CHE que cette dernière.

La prostigmine, dont l'affinité est 80.000 fois plus grande que celle de l'ACh, est scindée avec une lenteur extrême par le ferment.

D'autre part, il n'y a pas de rapport entre l'affinité des divers esters de la choline pour la CHE (assimilable au récepteur tissulaire de l'ACh) et l'activité physiologique de ces esters (Ziff, Jahn et Renshaw, 1938).

Les conditions d'une inhibition par compétition ont été formulées par Easson et Stedman (1936) :

Il faut que :

1. la réaction enzyme-inhibiteur soit reversible.

2. le complexe EI soit entièrement dépourvu d'activité enzymatique

3. un fort excès de substrat arrive à débloquer le ferment, c'est-à-dire à se substituer à l'inhibiteur, du moins partiellement.

4. l'inhibition s'exerce aussi bien sur le substrat naturel que sur d'autres substrats attaquables par l'enzyme, proportionnellement à leurs affinités respectives pour le ferment. En ce qui concerne l'inhibition obtenue par l'ésérine ou la prostigmine, celle-ci a l'allure d'une inhibition non compétitive. Cela parce que ces corps sont très lentement hydrolysés par le ferment et ne se laissent pas déplacer par un excès de substrat. Or, si l'on songe aux affinités comparées de l'ACh et de la prostigmine pour la CHE, on conçoit facilement que la liaison Prostigmine-CHE soit trop forte pour pouvoir être rompue par la présence d'ACh, même à de très fortes concentrations.

Méthodes de dosage de la cholinestérase

La scission enzymatique de l'ACh peut être observée et mesurée par de très nombreuses méthodes, biologiques ou biochimiques. Les unes et les autres présentent des avantages et des inconvénients et l'on doit adopter le procédé de choix pour chaque recherche, selon le but poursuivi.

Les méthodes biologiques s'approchent davantage des conditions physiologiques, car elles utilisent des quantités faibles de substrat et de ferment. Mais elles sont plus difficiles à réaliser, plus longues et moins précises que les méthodes biochimiques. Elles ne peuvent que difficilement être exprimées numériquement. La rapidité et la constance des méthodes biochimiques, leur grande précision ne doivent cependant pas faire oublier que ces dosages s'éloignent des conditions physiologiques, par leur durée et par l'emploi de trop fortes concentrations d'ACh et de CHE.

1. *LES METHODES BIOLOGIQUES*

Le principe de ces méthodes est uniforme. Il est basé sur le dosage d'une quantitié fixe d'ACh avant et après l'action de tissus ou de liquides organiques. L'estimation de la quantité d'ACh détruite se fait sur un réactif biologique ou chimiquement.

Technique générale.

On mélange, en général, à 37° C, une quantité déterminée d'ACh à une quantité fixe de liquide organique ou de broyat

de tissu. Après un temps constant, on arrête la réaction en inactivant brutalement la CHE par :

— précipitation par un acide fort (ac. trichloracétique à 10-20 % ; ac. métaphosphorique à 5 %),
— précipitation par l'alcool absolu ou l'acétone,
— adjonction d'une forte quantité d'ésérine,
— ébullition ou immersion du mélange dans l'air liquide.

L'extraction de l'ACh, après la réaction, doit toujours se faire en milieu acide(pH = 3,9) où la stabilité de l'ACh est optima (Hoffmann, 1930).

Ici encore, nulle méthode n'est parfaite et l'on doit choisir celle qui présente le moins d'inconvénients pour la recherche poursuivie.

1. *Le blocage du ferment par l'ésérine.* Ce procédé nous paraît, malgré son emploi très fréquent, comme le moins bon, car l'inhibition de la CHE par l'ésérine est loin d'être immédiate et complète, quelle que soit la dose d'alcaloïde utilisée.

En effet, Easson et Stedman (1936) ont montré que l'ésérine n'inhibe la CHE que lentement et progressivement. Le blocage du ferment n'atteint son maximum qu'après 30 minutes de contact et, comme l'ont remarqué Lœwi et Hellauer (1938), les extraits de cerveaux fortement ésérinés continuent à scinder l'ACh, bien que très faiblement, car l'inhibition n'est jamais absolue.

L'inhibition par ésérination ne convient donc pas pour un blocage brutal de l'action enzymatique et toutes les expériences pratiquées par cette méthode ne peuvent être accueillies sans réserves.

2. *La précipitation ou l'extraction par l'alcool ou l'éther* présente également de gros inconvénients ; c'est que l'alcool modifie la réactivité des substrats contractiles.

L'intestin de Cobaye devient hyposensible à l'ACh en présence d'alcool, alors que celui-ci accroit la réactivité du muscle de Grenouille.

On voit donc que l'utilisation de l'alcool pour bloquer la décomposition enzymatique de l'ACh se heurte à des erreurs de dosage. Ces erreurs restent, bien entendu, relatives, car on utilise la même méthode avant et après l'action enzymatique.

D'autre part, la CHE n'est pas totalement inactivée par l'alcool, car après l'évaporation de celui-ci, elle peut retrouver une très faible fraction de son activité première (Lœwi et Hellauer, 1938).

3. *La précipitation par les acides forts a l'avantage* d'inactiver totalement la CHE. Mais le dosage des extraits acides sur les réactifs biologiques nécessite une neutralisation stricte. En effet, comme l'ont montré Ahlgren (1929) pour l'intestin isolé d'animaux à sang chaud et Kahlson (1934) pour le Rectus de Grenouille, l'acidification du milieu augmente de 30 à 40 %

la réponse de ces réactifs vis-à-vis de l'ACh. D'autre part, les acides forts détruisent le complexe acétylcholinique et augmentent ainsi le rendement en ACh des extraits.

4. Il est indiscutable que la *meilleure méthode* pour inactiver brusquement la CHE est de plonger le tissu brusquement soit dans *l'eau bouillante acide*, soit dans *l'air liquide*. L'inhibition est immédiate, et il suffit de réchauffer ensuite l'extrait congelé dans du Ringer ésériné avant de pratiquer le dosage.

LES REACTIFS BIOLOGIQUES

Ces réactifs sont des organes régis par le système cholinergique, qui donnent, en présence d'ACh à faibles concentrations, des réponses spécifiques, motrices ou sécrétoires.

Nous allons passer en revue quelques uns de ces organes réactifs en indiquant leur sensibilité.

a) Organes d'animaux a sang froid.

1. *Le muscle dorsal antérieur de la Sangsue.*

Cette préparation est d'une très grande sensibilité. C'est également le réactif le plus employé depuis Fuehner (1918) et Minz (1932). L'ésérination est indispensable.

La précision du dosage serait pour Minz de ± 10 % ; nos expériences nous ont donnée une précision moindre : 10 à 20 %. La sensibilité atteindrait 10^{-8} à 10^{-9}. Certaines Sangsues réagissent encore aux dilutions de 10^{-10} d'ACh. On peut augmenter cette sensibilité du muscle ésériné en le traitant simultanément par du Cardiazol (pentaméthylène- tetrazol) ou la Coramine (diéthylamide de l'acide pyridine-B-carbonique). Il s'agit d'un effet direct de ces substances sur les récepteurs acétylcholiniques du muscle et on augmente ainsi la sensibilité de l'organe de Sangsue de 5 fois, celle du rectus de Grenouille de 15 fois.

2. *Le muscle Rectus Abdominis de Grenouille.* . .

Méthode mise au point par Chang et Gaddum (1933) et la plus spécifique de l'ACh, bien qu'un peu moins sensible que la précédente. L'ésérination est facultative, car le muscle contient très peu de CHE. La dose-seuil d'ACh à laquelle réagit cette préparation varie, suivant les muscles, entre 1/2.500.000 et 1/10.000.000.

Les dosages sur le muscle de Grenouille, comme d'ailleurs sur tous les organes réactifs de cet animal, ne peuvent être pratiqués qu'en saison froide.

3. *Cœur isolé de la Grenouille.*

C'est un des réactifs les plus employés pour le dosage de l'ACh. Mais il est assez infidèle (Beznak, 1934). La sensibilité à l'ACh atteint suivant les cœurs et les saisons, $1/10^{8}$ à $1/10^{10}$ L'ésérine augmente légèrement la sensibilité.

4. *Lambeaux d'oreillette de Grenouille.*

Sensibles à $10^{=7}$. Peu utilisés.

5. *Cœur isolé de l'Escargot.*

Le cœur est monté suivant la technique de Cardot et de son école. Nous avons été les premiers à utiliser ce réactif pour le dosage quantitatif de l'ACh. La sensibilité est très variable d'un cœur à l'autre, mais elle est constante pour un même cœur, que l'on peut utiliser pour de multiples expériences pendant au moins six heures. Elle atteint dans certains cas, 1/25.000.000 d'ACh. L'ésérination préalable n'est pas nécessaire.

6. *Le poumon isolé de la Grenouille.*

Ce dosage, mis au point par Dijkstra et Noyons (1939) présente l'intérêt capital, justifiant les difficultés de la technique, de pouvoir rendre possible le dosage de quantités très faibles d'ACh, atteingnant les dilutions de 10^{-12} et 10^{-15}.

Ce sont ces quantités infimes et qui sont vraiment au niveau des processus physiologiques.

Le poumon isolé de Grenouille est le réactif le plus sensible pour doser de très faibles quantités d'ACh.

b) Organes d'animaux a sang chaud.

Tous les organes dont l'innervation motrice est cholinergique peuvent servir à la détection et au dosage de l'ACh. On utilisera à cette fin, les organes les plus sensibles à cette hormone et, en particulier, les diverses fractions de l'intestin grêle.

1. *L'intestin de Rat.*

Cette préparation recommandée par Bernheim (1933, 1934) présente une sensibilité égale sur toute sa longueur et réagit aux dilutions de 10^{-8} à 2.10^{-9} d'ACh.

2. *L'intestin de Souris.*

Plus sensible que le précédent pour Kahlson (1934).

3. *L'intestin de Cobaye et celui du Lapin* peuvent également être utilisées pour le dosage de faibles concentrations d'ACh ($10^{=9}$ à 10^{-10}).

4. *Les intestins d'Oiseaux* (Pigeon, Poule) sont beaucoup moins sensibles que ceux de Mammifère et ne peuvent servir au dosage.

5. *L'utérus de Cobaye vierge,* suivant la technique de Webster (1935) présente une faible sensibilité (10^{-6}), mais ses réponses sont d'une grande constance.

Dans tous ces dosages sur organes isolés d'homéothermes, il y a lieu de craindre l'interférence :

a) des mouvements péristaltiques propres de l'organe ;

b) de la présence d'autres corps contractant ceux-ci, telle l'histamine.

c) Dosages sur les animaux entiers.

On utilise les propriétés hypotensives de l'ACh pour déceler cette substance. Hunt et Taveau (1906) ont ainsi dosé l'ACh sur la *tension artérielle de Chat.* On a également employé le Lapin (Euler et Gaddum, 1931) et le Chien (Levy et Olszycka, 1936). Sensibilité de l'ordre de 1/10e de gamma.

LE DOSAGE CHIMIQUE DE L'ACETYLCHOLINE

Il est également possible de doser l'ACh subsistant après l'action de la CHE par une méthode purement chimique. Elle est basée sur les formes insolubles de l'ACh : perchlorates, phosphotungstates. silicotungstates, Reineckates, chloraurates et chloroplatinates. La description détaillée de ces techniques de précipitation est donnée par Dudley (1929) et par Kahane et Levy (1936).

Les Reineckates sont les plus utilisés en pratique. Beattie (1936) a mis au point un dosage colorimétrique avec les sels de Reinecke. Les Reineckates de Choline et d'ACh sont insolubles dans l'eau froide, l'alcool absolu, mais solubles dans l'acétone en donnant une coloration rouge vif. On peut comparer au photomètre l'intensité de la coloration obtenue avec des solutions standard d'ACh, car cette intensité est directement proportionnelle à la quantité de molécules de sels de Reinecke combinées à l'ACh, molécule par molécule.

On différencie les Reineckates de choline et d'ACh par le fait que le précipité de choline est brunâtre et se forme dans les 10 premières minutes à chaud, alors que le précipité d'ACh est tardif, rouge et ne se forme qu'à froid (20 minutes à 0°).

LES DOSAGES BIO-CHIMIQUES

L'hydrolyse spontanée et enzymatique de l'ACh entraîne la scission de celle-ci en choline et acide acétique libre. C'est

précisément sur cette libération d'acide acétique que sont basées toutes les méthodes de dosage bio-chimique de la CHE.

L'acide acétique libéré peut être titré directement par adjonction d'un alcali que l'on verse progressivement dans le mélange où se fait la réaction afin de maintenir pendant un temps donné (variable suivant chaque méthode) un pH arbitrairement fixé.

Comme indicateur, on peut se servir d'un colorant qui doit n'exercer aucun effet fonctionnel sur le CHE. On peut éviter l'adjonction d'un indicateur en mesurant le pH à l'aide d'une électrode en verre. On peut enfin mesurer simplement, à l'aide d'un électromètre, le temps de passage du pH de départ à un autre pH plus acide que l'on fixe à volonté, dans les limites où ce pH n'influence pas l'activité du ferment.

Toutes ces possibilités ont donné lieu à un grand nombre de techniques de dosage, que nous allons décrire rapidement.

L'acide acétique libéré peut également être dosé d'une manière indirecte en agissant sur un milieu bicarbonaté, dont il libère quantitativement le CO^2. Le dégagement gazeux est ensuite mesuré par eudiométrie. Cette technique de dosage nécessite un appareil de Warburg ou similaire.

Suivant les quantités d'enzyme et de subtrat mises en jeu, cette méthode a également donné lieu à un série de variantes.

Dans tous les dosages bio-chimiques, l'on doit tenir compte de la décomposition spontanée de l'ACh dans les conditions d'expérience. Il faut, par conséquent, instituer, parallèlement au dosage, une expérience à blanc, où la solution de CHE est remplacée par de l'eau distillée. On déduit ensuite, pour connaître l'action du ferment, l'hydrolyse spontanée de l'hydrolyse totale qui est fournie par le dosage.

Pour le cas du sérum humain ou de Cheval que nous avons particulièrement étudié, cette hydrolyse spontanée de l'ACh représente 10 à 15 % de l'hydrolyse totale. Les résultats que nous donnons sont toujours des résultats d'action enzymatique pure, après déduction des valeurs de l'« essai à blanc ».

1. *Les dosages titrimétriques.*

Chronologiquement, le premier de ces dosages a été mis au point par Renshaw et Bacon en 1926. Ce sont ces auteurs, semble-t-il, qui ont montré la voie des dosages titrimétriques.

Dans une éprouvette, maintenue dans un thermostat à 37° C, on met 0,5 cc de sérum, dilué à 1:50 dans de l'eau distillée, 5 à 7 gouttes de Rouge de Crésol et une dose fixe d'ACh. Le pH de départ doit être de 7,8 et on maintient ce pH pendant toute la réaction en ajoutant dans le mélange à partir d'une microburette de la baryte ($Ba(OH)^2$,0,083 N).

En somme dans cette méthode, le principe du dosage titrimétrique est entièrement décrit, mais une grave critique peut être présentée. En effet, l'utilisation de la baryte comme alcalin

est erronnée, car, comme nous l'avons montré (Frommel, Herschberg et Piquet, 1944), l'ion Ba est un très fort inhibiteur de la CHE. L'adjonction de ce corps inhibiteur fausse, par conséquent, les résultats de Renshaw et Bacon puisque le ferment à étudier ne peut fonctionner qu'à une fraction de son rendement normal.

Une méthode analogue a servi aux premiers travaux de Stedman et White (1933).

L'alcali utilisé fut, cette fois, la NaOH 0,02N, ce qui rend la technique parfaite. Indicateur : rouge de crésol. Le pH est fixé à 8,0 et l'expérience dure 20 minutes.

C'est cette méthode qui a été perfectionnée en 1937 par Hall et Lucas. Comme nous avons employé pour toutes nos recherches ce moyen de dosage, nous voulons donner une description exacte et détaillée de sa technique :

Méthode titrimétrique de HALL et LUCAS

Dans une grande éprouvette on met 0,5 ccm de sérum dilué dans 10 ccm d'eau distillée exempte de CO^2, et 4 gouttes d'indicateur (rouge de crésol en solution à 0.04%. Virage à pH 8,0). L'on amène le pH à 8,0, puis on verse dans l'éprouvette une quantité d'acétylcholine correspondant à 25 mg d'acétylcholine base, et on rétablit le pH initial (8,0). Le tout est plongé dans un thermostat réglé à 38° C. Toutes les 5 minutes on verse à partir d'une burette de la soude (NaOH) exempte de CO^2 à 0,01 N pour ramener le pH à son point de départ. Ces lectures sont faites par comparaison colorimétrique avec une solution tamponnée à pH 8,0 (tampon au véronal suivant *Michaelis* (1931) contenant le même nombre de gouttes d'indicateur.

L'expérience dure 20 minutes (4 lectures) et l'activité enzymatique est exprimée en ccm de NaOH 0,01 N, nécessaires pour neutraliser l'acide acétique mis en liberté par la scission enzymatique de l'acétylcholine pendant cette période.

Parallèlement à l'expérience en cours, nous faisons une réaction analogue, mais sans ajouter de sérum (essai à blanc), afin d'étudier dans les mêmes conditions d'expérience l'hydrolyse non enzymatique de l'acétylcholine. On déduit ensuite le résultat de l'essai à blanc du résultat global, afin de déterminer ainsi l'hydrolyse purement enzymatique de l'acétylcholine.

Nous avons utilisé comme substrat de l'action cholinestérasique le chlorhydrate d'acétylcholine en solution à 10% dans de l'eau distillée exempte de CO^2. La solution est amenée au pH 4,5 par quelques gouttes d'acide acétique. Hoffmann (1920) a en effet indiqué que dans ces conditions l'acétylcholine ne subit pratiquement aucune hydrolyse spontanée pendant au moins huit jours. Nos solutions ont été fraîchement préparées tous les trois jours.

Cinétique de la réaction

1° *Le pH.* D'après Glick (1937) et d'autres auteurs, l'optimum de fonctionnement de la cholinestérase se place entre 8,2 et 8,5. Dans nos conditions d'expérience, nous travaillons à pH 8,0, c'est-à-dire à un pH moyen entre l'optimum et celui que l'on trouve physiologiquement dans l'organisme.

2° *Concentration.* Easson et Stedman (1936), Hall et Lucas (1937) et Glick (1937) ont déterminé l'optimum de concentration de substrat à 0,0554 mol d'acétylcholine, qui est inversément proportionnelle à l'activité de l'enzyme est de 0,0011 (Glick, 1937).

Dans la méthode que nous employons, ces deux optima sont strictement observés.

3° La limite des vingt minutes de la réaction a été fixée par Hall et Lucas, qui trouvent que la réaction suit une ligne droite dans les premières vingt minutes, puis s'infléchit vers l'horizontale. Ils proposent de n'étudier que « l'initial velocity » qui renseigne suffisamment sur l'allure de la réaction.

4° L'acétylcholine subit, dans nos conditions d'expérience (pH alcalin) une hydrolyse spontanée (non enzymatique) dont le degré n'est pas négligeable. En général, cette décomposition correspond à 0,30-0,40 ccm de NaOH que l'on déduit du résultat final (essai à blanc).

Méthode de VAHLQUIST

Vahlquist (1935) a préconisé une variante de cette méthode. L'inconvénient des lectures directes du virage de l'indicateur est l'imprécision. C'est pourquoi cet auteur propose de lire ce virage au photomètre. De nombreux colorants bloquent plus ou moins fortement la CHE. Par contre, le p-nitrophénol, à 0,0004%, reste sans influence sur l'activité enzymatique. Dans une cuve du photomètre, possédant un filtre approprié, on met 1 cc de sérum + 1 cc de la solution d'indicateur + 10 cc d'une solution d'ACh étalon + 8 cc de solution physiologique à 0,9%. Volume total : 20 cc.

pH fixe à 7,4.

Comme alcalin, Vahlquist utilise la soude 0,01 N qui s'écoule à partir d'une microburette spéciale à faible débit. Durée du dosage 10 minutes. Les résultats, dont la précision serait de ± 0,03 cc de NaOH 0,1 N, sont exprimés de la manière suivante :

1 unité de CHE = à la consommation 0,10 cc de NaOH 0,01 N en 10 minutes, à pH 7,4 et à 37° C.

La méthode photométrique de ABDON et UVNAS (1937).

Ce dosage utilise un photomètre du type PULFRICHT. Le Le principe de cette méthode est basé sur la formation d'une coloration brun-rouge, produite par la réaction entre le $FeCl^3$ et l'acide acétique ou ses sels.

La lecture de l'extinction au photomètre se fait à travers un filtre S 57 et une épaisseur de cuvette de 50 mm.

On peut ainsi mesurer la quantité d'acide acétique libéré par la scission enzymatique de l'ACh en une unité de temps.

On doit faire une tabelle standard, avec des solutions titrées d'acide acétique, pour pouvoir lire des données inconnues.

Technique : On mesure, dans une éprouvette de 40 cc, 10 cc d'une solution tampon (5 vol. de Borax 0,1M + 15 vol. d'acide borique 0,4 M pH = 8,05). On ajoute ensuite 5 cc de plasma dilué à 1:20 et 10 cc d'une solution d'ACh à 0,756 %. Le mélange est bouché hermétiquement et placé au B. M. à 37°.

La plus grande précision de dosage est obtenue lorsque l'hydrolyse atteint 50% du substrat soumis à l'enzyme et cela demande en moyenne 200 minutes.

On refroidit ensuite le tube sous eau courante et on ajoute au mélange 2,5 cc d'une solution de $FeCl^3$ à 15%. Cette solution est très acide et arrête instantanément l'hydrolyse enzymatique et l'hydrolyse spontanée de l'ACh. En même temps, la réaction avec l'acide acétique formé donne une coloration brun-rougeâtre due à la formation de triferrihexacétate.

On met ensuite la solution ainsi colorée dans la cuve d'un photomètre de Pulfricht (couche de 50mm d'épaisseur) et la lecture de l'extinction se fait avec un filtre S 57 du photomètre.

Parallèlement, on fait la même expérience avec un mélange où le sérum est remplacé par une quantité identique d'eau distillée, afin de déterminer l'importance de la scission spontanée de l'ACh de ces conditions expérimentales.

Cette méthode est assez compliquée et ne présente pas d'avantages visibles sur la titrimétrie selon HALL et LUCAS.

Un de ses inconvénients est que la réaction n'est pas spécifique, car on l'obtient également avec d'autres esters de la choline.

La précision de la méthode ne dépasse pas non plus celle de la titrimétrie, puisqu'elle est de ± 1.5%.

LES METHODES ELECTROMETRIQUES

Afin d'éviter l'interférence des indicateurs dans la réaction fermentaire et l'imprécision dans la lecture des virages, GLICK (1937) a proposé d'utiliser la mesure électrométrique du pH à l'aide d'une électrode en verre.

Ce procédé est très intéressant, car il permet de doser l'activité cholinestérasique dans des suspensions de tissus et dans les liquides colorés ou opaques.

Technique de GLICK (1937).

0,2 cc de sérum, ou de suspension de tissu, sont mis en contact avec 20 cc d'une solution fraîchement préparée d'ACh à 0,2%. On ajoute au mélange 1 ou 2 gouttes de NaOH ou de HCl n/10 pour amener le pH à une valeur de départ constante.

L'acidification du milieu est continuellement compensée par un écoulement, à partir d'une micro-burette, de NaOH 0,01N.

L'expérience dure 30 minutes et se fait à la température constante de 25° C. Nous ne comprenons pas la raison de cette température qui s'écarte des conditions physiologiques.

Les résultats sont exprimés en cc de NaOH n/100, pendant 30 minutes.

Variante de SCOZ et CATTANEO (1937).

Le principe de la méthode reste le même, mais la température est de 37°5 C.

L'appareil de dosage est une cuve à réaction reliée à un électromètre capillaire.

La cuve de titration comprend deux récipients, maintenus à 37°5 C, dont l'un sert à la titration proprement dite, alors que l'autre est rempli d'une solution tampon et sert à maintenir un point de comparaison.

Dans le récipient de titration proprement dit plonge l'extrémité d'une micro-burette par laquelle s'écoule le NaOH n/50 nécesaire pour maintenir le pH à 8,0, c'est-à-dire l'index de l'électromètre à 0.

Durée de l'expérience 30 minutes.

Cette méthode semble parfaitement s'adapter au dosage de la CHE.

Un appareil perfectionné, destiné au dosage de la CHE par la méthode électrométrique, fut récemment présenté par Sanz (1944) au Congrès des Physiologistes suisses. L'avantage de cet appareillage est la régularité d'écoulement de la soude et la variation possible des températures de l'expérience.

LA METHODE DE AMMON et VARIANTES

Dès 1933, Ammon proposa de doser l'activité de la CHE par une méthode indirecte en utilisant l'appareillage de Warburg.

L'acide acétique, libéré par l'action de la CHE sur l'ACh en milieu bicarbonaté, déplace le CO^2 qui s'accumule dans l'eudiomètre. Comme la réaction est monomoculaire, une mol. -gr d'acide acétique libère une mol. -gr de CO^2.

On emploie des récipients à compartiments multiples qui permettent de ne mettre en contact les solutions de ferment et de substrat qu'au moment désiré.

pH du milieu 7,4. Température 37°5 C.

Le gaz de l'eudiomètre est composé de 95% de N^2 et de 5% de CO^2.

Quantité de sérum utilisé : 0,01 cc dans 0,5 cc Ringer bicarbonaté.

Quantité de substrat : 1,5 cc d'une solution à 0,5%.

Volume final : 3 cc.

Concentration finale d'ACh 0,375%.

Concentration finale de sérum 0,5%.

Après stabilisation de la température et de la pression gazeuse, on renverse le flacon, mettant ainsi en contact le substrat avec son ferment. Le dégagement de CO^2 qui se produit est mesuré toutes les 10 minutes pendant 60 minutes.

La courbe de décomposition est rectiligne.

Les résultats sont exprimés en mm^3 de CO^2 dégagés en 60 minutes dans ces conditions d'expérience.

Les méthodes dérivant d'Ammon sont nombreuses et diffèrent de celle-ci par les proportions de ferment et de substrat mises en jeu, par la température ou le pH.

Zeller et ses collaborateurs, travaillent avec 0,10 cc de sérum à pH 7,8.

Antopol et collaborateurs à 30° avec les mêmes concentrations qu'Ammon.

Stedman et Stedman (1935) modifient légèrement la technique d'Ammon en utilisant le manomètre différentiel de Barcroft, mais le principe reste le même.

La méthode d'Ammon peut être simplifiée d'après Rinkel et Pijoan (1938) en mesurant la pression du CO^2 après son extraction du sérum qui avait été mélangé à une dose fixe d'ACh.

Ces auteurs emploient dans ce but un appareil de van Slyke. Il existe, en effet, du CO^2 dans le sérum, soit sous forme anhydre, soit sous forme hydratée, les deux formes étant saturées par des bases :

La plus grande partie se trouve sous forme de bicarbonate (94,8%) ; une autre partie est sous forme de carbonate (0,4%) et enfin 4,18% sont sous forme d'acide carbonique hydraté.

L'acide acétique produit par la CHE libère le CO^2 d'abord à partir du bicarbonate et cela proportionnellement à la quantité d'acide apporté, molécule pour molécule.

Enfin, Linderstrom-Lang et Glick (1937) ont mis au point une méthode de *MICRO-DOSAGE de la CHE* permettant d'estimer le taux CHE d'un petit nombre de cellules et de faire ainsi des recherches de la distribution histo-chimique de ce ferment.

Le principe chimique du dosage est celui de la méthode d'Ammon. On mesure du CO^2 dégagé par l'extrait fermentaire agissant sur une solution d'ACh à 0,5% (dilution opt. de substrat) dans un Ringer bicarbonaté.

L'appareil est inspiré du « Cartesian Diver » ou diablotin. Le mélange de ferment et de substrat est mis dans un tube capillaire, chargé à sa base pour tenir verticalement et plongé dans une solution de sulfate d'ammonium. L'ensemble est relié à un manomètre à eau réglable au 1/10e de cm.

Ayant établi un équilibre de pression, on met l'expérience en route. Le gaz dégagé fait monter le diablotin proportionnellement à sa quantité. On exprime les résultats par le volume d'eau nécessaire pour ajuster la pression à son niveau initial et ramener le diablotin à sa position de départ.

Un calcul assez simple permet de déterminer par la pression le CO^2 dégagé en une unité de temps.

Les résultats comparés avec des méthodes analogues macrométriques indiquent une précision identique.

CHOIX DES METHODES DE DOSAGE

Disposant d'un grand nombre de moyens pour doser la CHE, le problème du choix d'un d'entre eux se pose à chaque chercheur. Aucune de ces méthodes n'est parfaite, mais il y en a certainement une qui s'adapte le mieux au but poursuivi.

D'emblée, il faut reconnaître que le choix devient plus limité si l'on élimine les méthodes manifestement erronnées ou inutilement compliquées.

1. *Les méthodes biologiques.*

Elles sont d'une mise au point assez difficile. Elles sont imprécises par le fait même qu'elles dépendent de la réponse souvent inconstante d'un réactif biologique. Elles ne peuvent trouver une expression numérique. Leurs réponses ne doivent donc être considérées que comme uniquement qualitatives.

Mais l'énorme avantage qu'elles représentent est de se passer à un « niveau » physiologique : elles utilisent de faibles quantités de ferment et de substrat, tout comme les processus in vivo.

D'autre part, en bloquant instantanément la réaction, l'on peut saisir des phénomènes très fugaces, des activations ou des inhibitions passagères, comme nous l'avons montré pour les anesthésiques chez l'Homme.

La cinétique de la CHE in vivo ne peut être mieux approchée que par ces méthodes.

Les méthodes biochimiques présentent de multiples avantages. Précises, constantes dans leurs réponses, elles ont l'unique inconvénient d'être prolongées et d'utiliser de fortes quantités de substrat et de ferment.

Chacune des méthodes bio-chimiques s'adapte le mieux à un but. La titrimétrie avec indicateur ne peut être utilisée que pour des liquides incolores et transparents et son application se limite pratiquement au sérum.

La titrimétrie avec électrode de verre peut être utilisée pour n'importe quelle préparation de CHE. Elle évite la présence d'indicateurs pouvant inhiber la CHE et l'imprécision subjective du virage.

Quant à la méthode manométrique d'Ammon, elle s'applique également à tous les liquides ou tissus, mais elle est longue, minutieuse et nécessite un appareillage très coûteux.

Equivalences des unités de cholinestérase (1)

La grande difficulté à laquelle se heurte la lecture des travaux expérimentaux ou cliniques consacrés à la CHE, est la diversité des méthodes de dosage de ce ferment et le fait que les résultats numériques sont exprimés en unités arbitraires.

Parmi les méthodes bio-chimiques les plus employées, citons la méthode gazométrique d'Ammon (et ses variantes) et la méthode titrimétrique d'après Hall et Lucas.

Nous nous sommes proposé d'établir une échelle d'équivalence entre les deux méthodes, afin de permettre une comparaison numérique entre les données des divers auteurs employant ces deux dosages.

Le calcul nous est permis par deux propriétés du système CHE.-ACh :

1. la réaction de l'ACh-CHE. est monomoculaire et obéit à la loi d'action des masses ;

2. le diagramme de la décomposition de l'ACh par son ferment hydrolytique est rectiligne pendant les premières 60 minutes de la réaction.

Pour comparer les résultats numériques de deux méthodes, une mesure *absolue* d'activité cholinestérasique est nécessaire.

Cette mesure absolue nous est fournie par le quotient d'activité de la CHE (Qche) de Nachmansohn.

Le Qche *est la quantité en mgr d'ACh hydrolysée par* 100 *mgr de tissu frais ou de liquide organique en* 60 *minutes, à* 37°*C et à un pH de* 7,8.

---

(1) Nous remercions M. J. Hochstaetter pour son aimable concours dans la rédaction de ce paragraphe.

Le travail d'unification consistait donc, par l'intermédiaire du QCHE, à trouver la relation entre les données de la méthode d'AMMON (en mm³ de CO^2) et celle de HALL et LUCAS (en cc de NaOH 0,01N).

Dans le tableau ci-dessous, nous avons résumé les diverses données du calcul.

	QCHE	Méthode de HALL et LUCAS	Méthode d'AMMON	Variante ZELLER
PH	7,8	7,8 à 8,0	7,5	7,8
Température ... Durée du dosage	37° C. 60'	37,5° C. 20'	37,5° C. 60'	37,5° C. 60'
Quantité de sérum	100 mgr.	0,5 cc. × 1,024 = 512 mgr.	0,01 cc. × 1,024 = 10,24 mgr.	0,10 cc × 1,024 = 102,4 mgr.
Principe		1 mol-gr. d'ACh (163) neutralisé par 1 mol-gr. de NAOH (40)	libère 1 mol-gr. d'acide acétique (60) qui dégage 22,4 litres de CO^2.	
Résultats exprimés en mgr. ACh		cc. de NAOH 0,01N	en mm³ de co^2	en mm³ de co^2
Calculs		Soit X la quantité d'ACh hydrolysée dans les conditions de ce dosage. On a QCHE = 3X /512, pour QCHE = 1, X = 1, 708 mgr. d'ACh, ce qui correspond à $\frac{1,708 \times 40}{163} =$ 0,418 mgr. de NAOH.	1 mgr. d'ACh hydrolysé correspond à 137,4 mm³ de co^2. Pour QCHE = 1, on aura $\frac{137,4 \times 10,24}{100} =$ 14,069 mm³ de co^2.	
Pour QCHE = 1 .	1	1,05 cc. NAOH 0,01N	14,07 mm³ co^2	140 mm³ co^2

Par la méthode de HALL et LUCAS, nous avons obtenu comme chiffre moyen de l'activité de la CHE de l'Homme 3 cc NaOH, avec les valeurs extrêmes de 2,50 à 3,50.

Les mêmes données par la méthode d'AMMON sont : 39,93 mm³ pour le taux moyen et 33 à 45,5 pour les extrêmes (AMMON et VOSS, 1935). Enfin, les données de ZELLER et ses collaborateurs (1941) sont de 359 mm³ pour la moyenne, et 290 à 460 mm³ pour les extrêmes.

Si l'on veut établir les coefficients de transformation entre les données des diverses méthodes de dosage, nous devons faire le calcul suivant :

Soit HL le résultat du dosage par la méthode de HALL et LUCAS, A celui de la méthode d'AMMON et Z celui de la variante ZELLER, on aura :

$$HL = \frac{1,05 \times A}{14,07} = 0,07463\ A$$

$$A = \frac{14{,}07 \times HL}{1{,}05} = 13{,}4\ HL$$

$$Z = 10\ A.$$

on peut comparer, dans le tableau suivant, les diverses données :

Méthode	Prise d'essai	Valeurs moyennes lues	Valeurs extrêmes lues	Qche moy.	Qche extr.	Coefficients de transformation
Hall et Lucas (nos propres résultats)	0,5 cc.	3 cc. NaOH 0,01N en 20 min.	2.50 à 3,50	2.78	2,38 à 3,33	HL = 0,07463 A HL = 0,007463 Z
Ammon	0,01 cc.	39,99 mm³ de co² en 60 m.	33 à 45,5	2.83	2,34 à 3,23	A = 13,4 HL A = 1,1 Z
Zeller	0,10 cc.	359 mm³ de co² en 60 m.	290 à 460	2.55	2,06 à 3,27	Z = 1,34 HL Z = 10 A

Les données de Zeller, Ammon et les nôtres se trouvent ainsi mises sur le même plan numérique et coïncident pratiquement. Les légères différences constatées sont très probablement dues au fait que les moyennes statistiques ne portent que sur un nombre relativement restreint de sujets dont les variations inter-individuelles sont très marquées. En tous cas, les valeurs extrêmes constatées sont superposables, quelle que soit la méthode de dosage utilisée.

DEUXIÈME PARTIE

RÉGULATION PHYSIOLOGIQUE DE LA CHOLINESTÉRASE

Variations physiologiques de la cholinestérase sérique

On sait fort peu de chose sur les changements physiologiques que subissent les cholinestérases des divers organes chez l'animal ou l'homme, et cela pour des raisons techniques facilement compréhensibles. Par contre, on connaît parfaitement les variations normales de la CHE du sang et particulièrement celle du sérum.

Si l'activité de la CHE sérique est très différente d'une espèce animale à l'autre et d'un individu à l'autre d'une même espèce, elle est d'une stabilité remarquable chez un même sujet. Ses variations physiologiques sont négligeables et l'on peut considérer le taux de la CHE sérique comme une des constantes individuelles d'un animal.

1. *Variations inter-spécifiques.* — Comme l'a noté Mahal (1938), elles sont très grandes. Le taux de la CHE sérique est très élevé chez le Cheval, faible chez le Chien et presque nul chez le Bovidé ou le Mouton. Il n'existe pas de systématisation possible dans la distribution de l'enzyme chez les espèces animales. Certaines d'entre elles, très voisines, ont des valeurs totalement différentes, alors que d'autres, très éloignées, possèdent des activités cholinestérasiques semblables (par exemple sérum de Cheval et hémolymphe de l'Escargot).

2. *Variations inter-individuelles.* — Dans une même espèce, les activités de la CHE sérique varient fortement d'un individu à l'autre. L'amplitude de la fluctuation des taux enzymatiques peut passer presque du simple au double, en particulier chez le Cobaye. Nous avons eu l'occasion de doser la CHE sérique chez plus de 500 Cobayes et les quantités normales de l'enzyme occupent toute l'échelle des valeurs entre 1,80 et 3,60 cc de NaOH (méthode de Hall et Lucas).

Chez l'Homme également, la variation entre divers individus est très grande. Moins ample que chez le Cobaye, elle atteint cependant 50 %, soit ± 25 % autour de la valeur moyenne. Les chiffres pouvant être considérés comme normaux chez l'Homme, toujours par la méthode de Hall et Lucas, varient entre 2,50 et 3,50 selon nos données. C'est également la conclusion de Ammon et Voss (1935), Vahlquist (1935), Hall et Lucas (1937), Abdon et Uvnas (1937), Hawes et Alles (1941), But et coll. (1942), Faber (1943), etc.

C'est pourquoi il est difficile de parler d'un taux normal, abaissé ou élevé de la CHE sérique, tant que les résultats se placent entre les valeurs extrêmes. Evidemment, si le taux est est inférieur à 2,50 ou supérieur à 3,50, on peut le considérer

comme anormal. Mais un taux normalement élevé peut baisser, sans franchir la limite inférieure de la normale, et cette baisse peut atteindre 30-40 %.

Il est donc illusoire de chercher des anomalies d'activité de la CHE sérique en pathologie humaine par la méthode statistique. Seules les variations constatées chez un même individu, avant, pendant ou après l'affection sont valables. De nombreux auteurs ont d'ailleurs compris l'erreur des méthodes statistiques et les ont rejetées, apportant ainsi des données stables à l'étude de la CHE.

3. *Variations individuelles.* — Chez *l'Homme,* les variations de la CHE sérique chez un même individu, étudiées en fonction du temps, sont extrêmement faibles.

Jellineck et Looney (1939) ont pu hospitaliser 20 individus normaux pendant un temps prolongé, afin d'observer chez eux les valeurs normales des diverses constantes physiologiques, dont la CHE sérique. Celle-ci a présenté un coefficient de stabilité remarquable (+ 0,97, alors qu'une invariabilité absolue correspond à + 1,0).

C'est également à une grande invariabilité physiologique du taux de la CHE sérique chez l'Homme qu'aboutissent les recherches d'Ammon et Voss (1935), Ginsberg, Kohn et Necheles (1937), Hall et Lucas (1937), Abdon et Uvnas (1937), Hawes et Alles (1941), Pirolli (1941), Butt, Comfort, Dry et Osterberg (1942).

Ces divers auteurs admettent comme limites maximales de variations physiologiques ± 5 à 10 %.

Milhorat (1938), frappé par cette stabilité, n'accorde qu'un rôle passif à la CHE sérique et conclut que « c'est un rempart irréactif contre l'excès de l'ACh dans le sang ».

Les seuls auteurs qui ont observé des variations notables de la CHE sérique chez un même individu sont Vahlquist (1935) et Faber (1943), mais leurs études ne portent que sur une nombre très restreint de sujets (3 pour Faber). Nos propres dosages, qui ont intéressé pendant plusieurs mois un assez grand nombre d'individus normaux, n'ont pas permis de noter des variations physiologiques dépassant ± 15 % au maximum.

Chez les Mammifères, la stabilité individuelle de la CHE sérique est aussi très grande.

Nous avons trouvé, chez un certain nombre de Cobayes, maintenus en observation pendant plusieurs mois (de la même saison, car il existe des variations saisonnières chez le Cobaye), un taux de la CHE sérique particulièrement stable (± 10 %).

Des recherches prolongées chez le Chien montrent aussi une remarquable constance de la CHE sérique (Hall et Ettinger, 1937).

De même Mahal (1938) observe chez d'autres espèces cette invariabilité du taux de la CHE sérique.

Seul, le Lapin présente de nettes variations chez un même individu (Ammon et Voss, 1935). Ces auteurs attribuent ce fait à la très faible teneur en CHE du sérum du Lapin.

Nous pouvons donc admettre, du moins pour l'Homme et le Cobaye, que nous avons personnellement étudiés, une constance assez grande de la CHE sérique chez le même individu, avec une variation maximum de 10 % (soit de ± 5 % autour de la moyenne).

4. *Facteurs divers.* — La CHE serait *indépendante de :*

a) l'âge (Vahlquist, 1935 ; Hall et Lucas, 1937 ; Milhorat, 1938 ; Pirolli, 1941). Toutefois Zeller et ses collaborateurs (1941-1942), étudiant l'influence des hormones sexuelles sur la CHE sérique, trouvent qu'elle est moins active avant la puberté et après la ménopause chez l'Homme. L'observation inverse pourrait se faire chez les Femmes. De même Faber (1943) constate que chez les nouveaux-nés les valeurs de la CHE sérique sont plus basses que chez l'adulte.

b) du poids corporel (Vahlquist, 1935 ; Hall et Lucas, 1937 ; Milhorat, 1938 ; Domini et Colombini, 1938).

c) de la masse musculaire (Hall et Lucas, 1937 ; Milhorat, 1938).

d) du régime (Vahlquist, 1935 ; Hall et Lucas, 1937). Mais les recherches plus récentes ont prouvé que les expériences de ces auteurs n'ont pas été sufisamment prolongées. Alors que Mahal (1938) observe qu'une semaine de régime strictement glucidique ne change pas la CHE sérique, une carence prolongée de protéines entraîne une chute du ferment (Faber, 1943).

e) du jeûne. Le jeûne absolu pendant une brève période ne modifie pas l'activité de la CHE sérique (Antopol, Tuchman et Shifrin, 1937 ; Domini et Colombini, 1938, Mahal, 1938). Par contre la dénutrition prolongée entraîne une nette diminution d'activité de la CHE sérique. Il en est de même pour les cachexies cancéreuses, tuberculeuses, etc. (Milhorat, 1938).

f) de la température du corps. (Milhorat, 1938 ; Lackey et Slaughter, 1942).

g) de l'insomnie. (Mahal, 1938).

h) de la fatigue physique. (Hall et Ettinger, 1937), ou *du repos absolu* (Ammon et Voss, 1935 ; Domini et Colombini, 1938).

5. *Sexualité.* — Alors que Hall et Lucas (1937), Pirolli (1941), Hawes et Alles (1941) considèrent qu'il n'existe pas de différence entre les taux de la CHE sérique de l'Homme ou de la Femme, Zeller et ses collaborateurs (1942), Butt et coll. (1942), Faber (1943) et nous-même, avons pu constater

que les valeurs enzymatiques du sérum sont un peu plus élevées chez l'Homme adulte que chez la Femme. Nous admettons comme normaux pour l'Homme les chiffres variant de 2,50 à 3,50 ; chez la Femme, les limites des valeurs normales sont de 2,25 à 3,25 en moyenne. La CHE sérique est donc supérieure d'environ 10 % chez l'Homme. Il en est de même pour la CHE du tissu cérébral.

Wattenwyl et Wenner (1941) ont observé qu'avant la puberté, le garçon et la jeune fille ont des taux cholinestérasiques comparables ; après l'instauration de la fonction sexuelle, les valeurs montent chez le jeune homme et baissent chez la femme, pour subir l'évolution inverse après la ménopause.

Chez le Cobaye, nous n'avons pas pu observer de différence entre les mâles et les femelles ; les taux seraient également identiques chez le Chien (Domini et Colombini, 1938).

6. *L'effort musculaire.* — D'après Hall et Lucas, le travail musculaire n'entraînerait pas de variations de la CHE sérique. Vahlquist, Hall et Ettinger confirment ces observations. Hawes et Alles (1941)), en provoquant un exercice musculaire violent, doublant la fréquence du rythme cardiaque, ne notent pas de variation de la CHE.. Mais un travail récent de Richter et Croft (1943) montre qu'après un exercice physique exigeant une grande dépense énergique, la CHE sérique augmente son activité de 15 à 51 %, correspondant à une hyperproduction d'ACh. Cette augmentation initiale est suivie d'un retour progressif vers la normale au cours des quelques heures suivant l'exercice. Les changements de l'activité cholinestérasique sont plus marqués que ceux pouvant résulter de l'hémoconcentration.

7. *Variations journalières.* — D'après certains auteurs, celles-ci n'existeraient pas chez l'Homme (Ammon et Voss, 1935 ; Faber, 1943 ; Wattenwyl et Wenner, 1941), ni chez le Chien (Hall et Ettinger, 1937).

Par contre, Vahlquist (1935), Antopol, Tuchman et Shifrin (1937) observent une légère hausse de la CHE sérique vers le soir, mais qui ne dépasse pas 4 à 8 %.

8. *Variations saisonnières.* — Nous avons pu montrer, dans l'étude des relations de la vitamine C avec la CHE, l'existence d'une variation saisonnière de la CHE sérique chez le Cobaye. Chez cet animal, le taux enzymatique monte en été et baisse en hiver. Il semble qu'en dehors de la richesse en vitamine C du régime, d'autres facteurs, tels que la température ambiante, jouent un certain rôle dans la genèse de ces variations.

Ces variations n'existent pas chez l'Homme (Lackey et Slaughter, 1942). Elles sont moins marquées chez le Chien. Il est cependant très intéressant de remarquer que les extraits

de pancréas de Chien sont plus riches en CHE si on les prépare en été (juillet, août, septembre) que pendant les autres mois (Mendel et Mundell, 1943).

Notons encore que les animaux hibernants (hérissons, hamsters), en état de sommeil hivernal, présentent une forte hypersensibilité à l'ACh des muscles squelettiques (Wachholder et Ledebur, 1932).

De même l'hyposensibilité des organes de la Grenouille (cœur, muscles, poumons) pendant l'été peut être attribuée à une rupture de l'équilibre tissulaire entre l'ACh et la CHE en faveur de la première.

9. *Variations régionales.* — Hall et Lucas (1937) notent que les valeurs normales de la CHE sérique de l'Homme varient autour de 2,50 cc NaOH 0,01 N. Les recherches de ces auteurs ont été effectuées à Toronto (Canada). Lackey et Slaughter (1942), travaillant au Texas (U.S.A.) par la même méthode, trouvent des valeurs normales oscillant autour de 4,72. Nous-mêmes, pratiquant nos dosages dans un climat intermédiaire entre ceux des deux précédents groupes d'auteurs, observons que les chiffres normaux de la CHE sérique chez l'Homme varient entre 2,50 et 3,50, avec une moyenne approximative de 3,00 (Herschberg et Frommel, 1944).

Il est difficile de comprendre cette différence géographique de l'activité cholinestérasique, d'autant plus que les individus transplantés d'un climat à l'autre gardent leurs valeurs enzymatiques initiales.

Lackey et Slaughter supposent que le climat agit par intermédiaire de la glande thyroïde. L'on sait que la fonction thyroïdienne est moins forte dans les climats chauds.

La cause ne peut, en tout cas, être due aux variations de la température corporelle, car la pyréthothérapie, portant la température à plus de 40°, n'affecte pas l'activité de la CHE sérique.

On ne peut constater de variations régionales de la CHE sérique chez le Chien.

10. *Activité génitale de la Femme.*

a) *La menstruation* ne provoque pas de changements de la CHE sérique (Hall et Lucas, 1937 ; Vahlquist (1935 ; Wattenwyl et Wenner, 1941).

b) *La grossesse.* Hall et Lucas (1937), Vahlquist (1935), Navratil (1939) ne constatent pas de variations de l'activité de la CHE sérique pendant la grossesse. Par contre, Zeller et Coll. (1942), Butt et Coll. (1942) considèrent que le taux cholinestérasique augmente dans le sérum, surtout au cours des 5 premiers mois de la gravidité.

Mais aucun de ces auteurs n'a mesuré cette activité chez la même femme. Leurs résultats sont dûs uniquement à la

comparaison des valeurs moyennes d'un certain nombre de femmes gravides ou non. C'est un procédé dont nous avons déjà dénoncé l'erreur, les variations inter-individuelles étant trop fortes pour permettre une étude par la méthode statistique.

Reprenant cette recherche, nous avons pu montrer que chez la même gestante l'activité de la CHE sérique *ne varie pas* pendant ou après la grossesse normale (Herschberg, Geisendorf et Piquet, 1944 a). Seules les grossesses pathologiques (états de prétoxicose ou de toxicose) présentent des baisses de la CHE sérique, en général parallèles à la gravité des troubles. Dès que ceux-ci s'amendent, le taux enzymatique remonte à sa valeur initiale.

Nous pouvons donc affirmer avec certitude que, chez la femme en gestation normale, le taux de la CHE sérique ne change pas en dehors des petites variations physiologiques qui ne dépassent pas ± 10 %.

c) *L'accouchement.* Nous traiterons plus loin de l'intervention du système ACh-CHE dans le déclenchement des phénomènes du travail obstétrical. Pour l'instant, mentionnons, et cela en accord avec Ammon et Voss (1935) et Navratil (1939), que l'accouchement normal n'entraîne que des changements minimes et négligeables de la CHE sérique (Herschberg, Geisendorf et Piquet, 1944 a).

Il est curieux de noter que le sang du cordon ombilical contient moins de CHE (— 47 %) que le sang de la mère (Ammon et Voss, 1935 ; Navratil, 1937).

11. *Variations de la CHE sérique en fonctions de la tension artérielle.*

Alors que Hall et Lucas (1937) et Pirolli (1941) ne trouvent pas le rapport entre les valeurs de la tension artérielle et celles de la CHE sérique, Zinnitz et Rentz (1940) ont cru observer que l'activité cholinestérasique du sérum sanguin était proportionnelle à la tension. Ces expériences, reprises par Reichert et Frisch (1942) et par Bruecke, Hueber et Sarkander (1941) n'ont pas pu être confirmées. Ces auteurs concluent à la complète indépendance des deux valeurs.

Nos propres recherches chez l'Homme sont également négatives. Il n'y a *pas de rapport entre la CHE sérique et la pression vasculaire*, sauf dans *certaines* formes d'hypertension où l'on rencontre souvent une activité cholinestérasique exagérée, mais cela encore sans proportionnalité avec la tension maximale.

Pour Genuit et Labenz (1941), l'activité de la cholinestérase du myocarde semble dépendre du débit coronarien ; un plus grand débit augmenterait l'activité enzymatique alors qu'une baisse de ce débit circulatoire entraînerait une hypo-

fonction de la CHE. Mais il n'existe pas de proportionnalité nette entre les deux facteurs.

De même, la teneur en ACh du sang des veines coronaires dépend de la tension de ces vaisseaux : si l'on accroît, par l'injection d'adrénaline, le taux acétylcholinique augmente de plusieurs fois (Krayer et Verney, 1934).

En résumé, l'on peut dire que la CHE sérique.

1. — est très différente d'une espèce à l'autre ;
2. — varie chez différents individus d'une même espèce ;
3. — est stable chez un même sujet pendant une longue période ;
4. — ne varie pas au cours de la journée ;
5. — subit des variations saisonnières chez le Cobaye, mais non chez l'Homme ;
6. — est plus active chez les habitants des pays à climat chaud, que chez ceux des pays froids ;
7. — ne dépend pas de l'âge, de la masse musculaire, du poids, du régime, du jeûne, de la température du corps, de l'insomnie, du repos ou de la fatigue ;
8. — est un peu plus élevée chez l'Homme que chez la Femme ;
9. — ne varie pas au cours de la menstruation, la grossesse ou de l'accouchement normal ;
10. — est indépendante de la tension artérielle.

Variations fonctionnelles de la cholinestérase

1. *La CHE sérique et l'excitation nerveuse.*

Tsuji (1932), puis Zinnitz (1940) et Zinnitz et Rentz (1941) ont noté que l'excitation prolongée du pneumogestrique entraîne une baisse d'activité de la CHE sérique ; cette baisse serait proportionnelle à l'intensité de l'excitation. Mais cette constatation ne put être confirmée par d'autres auteurs.

L'excitation, par un courant tétanisant, des nerfs moteurs du plexus crural ou lombaire, détermine une augmentation du pouvoir cholinestérasique du sang veineux provenant des muscles stimulés. Par contre, l'excitation directe de muscles énervés diminue la CHE sérique du sang veineux efférent (Croxatto, Huidobro, Croxatto et Salvestrini, 1939).

Toutefois, les résultats de Croxatto n'ont pas pu trouver confirmation. Trowbridge (1941), qui a reproduit les mêmes

expériences sur des Grenouilles et des Chats, n'a pas trouvé de modification de la CHE sérique dans le sang efférent des muscles excités indirectement.

Ces recherches de Trowbridge ont été effectuées par le dosage selon Stedman, qui dure au moins 20 minutes. Il est dès lors possible qu'une variation, qui doit être extrêmement fugace, ne puisse être constatée par cette méthode.

C'est un des cas précis où un dosage rapide par les méthodes biologiques est spécialement indiqué.

La question demande donc une nouvelle série expérimentale.

2. *Tétanos musculaire et CHE du muscle.*

La teneur en ACh et l'activité cholinestérasique d'un muscle ayant subi une tétanisation maximale pendant 60 secondes sont nettement augmentées par rapport au muscle sysmétrique au repos (Seidlitz, 1939).

Runcan (1940) répète la même expérience : après une excitation tétanisante du sciatique de Chien, on plonge les muscles contracturés dans l'air liquide, puis on dose la CHE musculaire. Par rapport aux muscles sysmétriques servant de témoin, l'augmentation de la CHE, dans les muscles contracturés, est de 21 à 28 %.

L'auteur interprète cette modification de la CHE comme une adaptation à l'apport accru d'ACh lors de l'excitation nerveuse.

Toutefois, des résultats contraires ont été obtenus par Vincent et Julien (1941), qui constatent une baisse d'activité cholinestérasique après tétanisation prolongée.

Nous expliquons cette contradiction par deux faits :

1° La tétanisation que produisent Vincent et Jullien dure 30 minutes, soit 15 fois plus longtemps que celle de Runcan et 30 fois plus que celle de Seidlitz. Il est évident que l'état du muscle est bien différent après cette tétanisation épuisante qu'après celle des auteurs précédents qui se rapprochent des tétanos physiologiques.

2° Nous considérons la méthode de dosage de Vincent et Jullien comme inadaptée au but de la recherche. Ces auteurs mesurent la quantité d'ACh détruite en 3 heures par le muscle étudié, après adjonction d'une solution d'ACh à 1/10.000. Cette méthode est inadéquate, car l'énorme quantité de substrat mise en contact avec la CHE musculaire peut inhiber ce ferment, surtout après 3 heures (accumulation d'acide acétique qui acidifie fortement le milieu). D'autre part, la durée de l'expérience est trop longue pour saisir des variations physiologiques extrêmement rapides.

3. *Teneur en ACh et en CHE des muscles et des nerfs au cours de la transmission des influx nerveux.*

Lissak, Nagy et Pasztor (1942), par une technique qui nous semble irréprochable, ont montré l'importance du système ACh.-CHE dans la transmission nerveuse.

Les auteurs excitent le sciatique (de Grenouille et de Chat) par des décharges maximales de condensateurs à la fréquence de 60 par seconde. Après 30 minutes, on assiste à une fatigue complète de la synapse neuro-musculaire. A ce stade, la teneur en ACh du nerf excité est beaucoup plus basse que celle du nerf témoin au repos. Par contre, dans le muscle excité, le taux de l'ACh est fortement augmenté et l'activité cholinestérasique abaissée, toujours par rapport aux muscles sysmétriques au repos.

Si l'on continue l'excitation malgré cet état de fatigue, on constate que la tension remonte dès la 2e-3e heure et la contractilité du muscle reparaît (5e stade de Rosenblueth). ou même la dépasse. La CHE musculaire varie dans le sens inverse que précédemment (hausse de la CHE musculaire, baisse de l'ACh).

Les auteurs concluent de ces expériences que, dans les divers stades de la transmission neuro-musculaire, il existe une relation étroite entre l'état fonctionnel des synapses et la contractilité du muscle d'une part et, d'autre part, le système d'ACh-CHE.

Parallèlement, il se produit des modifications dans le rapport Ca/K des muscles, alors que ce rapport reste invariable dans les nerfs (Lissak et Kovacs, 1942). Une excitation prolongée du sciatique de Mammifère baisse le K et augmente le Ca musculaire. Après l'arrêt de l'excitation, le rapport revient à la normale. Il est probable que l'abaissement de la teneur en K est dû au passage de ce métal dans le sang veineux efférent du muscle.

Cholinestérase et Vitamines

Les relations entre les vitamines et les ferments sont trop connues pour que l'on doive insister sur ce sujet. Nombre de vitamines interviennent dans l'activité fermentaire, soit comme co-ferments (la cocarboxylase est un pyrophosphate d'aneurine), soit comme activateurs directs de l'action enzymatique (effet de l'acide l-ascorbique sur la phosphatase).

La CHE est également influencée par diverses vitamines. En particulier, ses relations avec la vitamine B_1 ont fait l'objet de nombreux travaux. Nous-même avons exploré l'action de l'acide ascorbique sur la CHE, ainsi que celle d'autres vitamines hydrosolubles.

Seules les vitamines liposolubles (A et D) n'ont pas été étudiées quant à leur action sur l'enzyme, car il est difficile de travailler dans les conditions de liposolubilité sans entraver l'action de la CHE.

I. Vitamine C et Cholinestérase

L'étude des relations entre la vitamine C et la CHE nous fut suggérée par plusieurs faits expérimentaux et cliniques, montrant un certain antagonisme entre l'effet acétylcholinique et l'action de l'acide ascorbique.

Données expérimentales. — G. et A. Ungar (1938) ont observé que l'acide ascorbique exerce une action pharmacodynamique anti-vagale ; l'injection d'acide ascorbique chez le Chien diminue l'effet de l'excitation électrique des terminaisons du pneumo-gastrique, de même que l'action hypotensive de l'acétylcholine. Cet effet s'observe entre la 30e et 90e minute après l'injection d'acide ascorbique. Remarquons tout de suite qu'il ne peut s'agir d'une action directe de l'acide ascorbique, puisque déjà 5 minutes après son injection intra-veineuse, on ne le retrouve plus dans la circulation (Plaut et Bulow).

Zimmet (1938) a fait en même temps des recherches parallèles sur le Lapin et a trouvé les mêmes résultats : Un Lapin est testé quant à sa réaction à l'ACh. Puis, quand la tension a repris son niveau initial, on injecte, par voie intraveineuse, de l'acide ascorbique. Il y a tendance à une élévation légère de tension (1). Mais le phénomène important est qu'une injection

(1) Fait précédemment constaté par KASAHARA et KAWAMURA (1937).

subséquente d'ACh ne produit plus la chute tensionnelle initiale. Zimmet explique ce phénomène par une décharge d'adrénaline par les surrénales sursaturées de vitamine C. Un an plus tard, Cioglia, puis Cioglia et Infantellina (1939) prouvent que si l'on injecte de l'acide ascorbique (25 à 100 mgr/kg) dans les veines d'un Chien, le seuil d'excitation électrique de l'extrémité périphérique du nerf vague s'élève notablement dans 5 cas sur 6. Ces modifications du seuil d'excitation commencent 30 minutes après l'injection d'acide ascorbique et atteignent leur maximum entre la 90e et la 120e minute. Après 150 minutes, retour du seuil à son taux initial. En somme, ces auteurs apportent une confirmation des résultats de G. et A. Ungar.

Enfin, Bori et Cera (1939) constatent qu'un état vagotonique, provoqué par la carence en vitamine C, peut être transformé en état sympathicotonique par l'administration d'acide ascorbique.

L'effet de l'acide ascorbique sur une autre manifestation de l'action acétylcholinique, la transmission neuro-musculaire volontaire, a été étudié par Rastelli (1942 a).

Dans une préparation neuro-musculaire de Grenouille, la curarisation de fatigue se produit beaucoup plus tardivement si l'on ajoute dans le bain de perfusion une petite quantité d'acide ascorbique.

L'acide ascorbique empêche donc, en partie du moins, l'accumulation d'ACh au niveau des plaques motrices, puisque c'est à ce phénomène que l'on tend à attribuer la curarisation de fatigue.

Rastelli (1942 b) encore montre que, chez l'Homme traité par la vitamine C pendant 10 jours, il y a une augmentation du travail maximum à l'ergographe de Mosso. Mais, dans ce cas, on doit faire quelques réserves sur les résultats, car l'auteur n'a pas institué des expériences de contrôle afin d'éliminer l'influence de l'entraînement.

On peut donc résumer les données expérimentales en disant que, *d'une part, le vague est hypoexcitable en cas d'hypervitaminose C et que, d'autre part, l'acide ascorbique est antagoniste de l'accumulation de l'ACh au niveau des plaques motrices.*

Nous savons, depuis Kreitmar (1934) que l'acide ascorbique favorise l'action de l'adrénaline (par inhibition probable de l'aminoxydase, ferment destructeur de l'adrénaline). Et c'est par cette persistance adrénalinique que Zimmet a cherché à expliquer le manque d'action de l'ACh après administration d'acide ascorbique.

Mais l'effet acétylcholinique dépend essentiellement de son

ferment inactivateur : *la CHE*. Des expériences antérieures (1943, 1944) nous ont montré que, dans les intoxications médicamenteuses, présentant des états vagotoniques, la CHE était plus ou moins fortement inhibée : l'or, l'arsenic, le plomb, le bismuth sont des inhibiteurs de la CHE, in vivo et in vitro.

L'acide ascorbique combat-il les manifestations toxiques par l'intermédiaire de la CHE ? Telle est la question que nous avons cherché à résoudre expérimentalement.

1° *EFFET DE LA VITAMINE C SUR LA CHE A FONCTION NORMALE*

Rubino (1940) constate que l'acide ascorbique injecté par voie intra-veineuse chez l'Homme, augmente la CHE sérique.

Les études in vitro de Ammon (1942) montrent, cependant que de très fortes concentrations de vitamine C (2,5 mgr d'acide ascorbique agissant sur 0,2 cc de sérum) inhibent la CHE du sérum de cheval de 22 %. 5 mgr de vitamine mélangés à 1 cc d'extrait de muscle de Sangsue, inhibent la CHE contenue dans cette préparation de 42 %.

Riechert et Schmid (1942) confirment ces résultats in vitro : 50 γ d'acide ascorbique agissant sur 0,2 cc d'extrait de muscle de Sangsue provoquent une inhibition de 20 %, et 100 γ de vitamine C, influant sur la même préparation, diminuent l'action de la CHE de 30 %. Si l'extrait de Sangsue est dilué à 1:20, l'inhibition par 500 γ d'acide ascorbique est de 60 %, mais si l'on dilue davantage l'extrait, il n'y a plus d'augmentation d'action avec la même dose de vitamine.

En résumé, Ammon, puis Riechert et Schmid considèrent l'acide ascorbique comme un faible inhibiteur de la CHE in vitro.

RECHERCHES PERSONNELLES

Nous avons exploré l'effet de l'acide ascorbique sur la CHE normale par diverses méthodes ; biologiques, bio-chimiques et toxicologiques.

a) *Méthodes biologiques*

L'idée directrice de ces expériences est que si l'acide ascorbique inhibe ou active la CHE de l'organe étudié, la réponse à l'ACh de cet organe sera augmentée dans le premier cas et diminuée dans l'autre.

1. La première méthode est celle du *muscle dorsal antérieur de la Sangsue*, selon la méthode de Minz (1932). Pour conserver intacte l'activité cholinestérasique du muscle, nous travaillons sur une préparation non ésérinée.

Un premier temps consiste à étalonner le muscle, c'est-à-

dire à trouver la concentration liminaire d'acétylcholine, active sur le muscle non sensibilisé par l'ésérine. Cette concentration varie, suivant les muscle, entre 1/200.000 et 1/100.000.

Nous soumettons ensuite le muscle à un bain de Ringer de Sangsue, contenant diverses concentrations d'acide ascorbique, pendant 3/4 h.

La réponse est identique avant et après le bain d'acide ascorbique. Dans quelques cas de forte concentration en acide ascorbique (1 % à 1 °/°°) on constate même une légère sensibilisation par la vitamine C, qui semble indiquer une dépression de l'activité cholinestérasique du muscle. *La cholinestérase du muscle de Sangsue n'est donc pas activée par l'acide ascorbique.*

2. Une deuxième méthode est celle de la *décontraction du muscle rectus abdominis de la Grenouille,* selon la technique de Scheiner (1939). Le rectus abdominis de Grenouille ne contient que très peu de cholinestérase. Si on le contracte par une certaine concentration d'acétylcholine (50 gammas), il reste en contracture tant que l'acétylcholine n'est pas hydrolysée. Si on ajoute dans le bain, où plonge le muscle contracturé, une certaine quantité de cholinestérase (du sérum de cheval, par ex.), l'inactivation de l'acétylcholine se fera rapidement et le muscle va se décontracter au fur et à mesure de la disparition de la substance contracturante.

Si l'on traite la cholinestérase du sérum par un inhibiteur ou un accélérateur de son activité, la décontraction du muscle se fera plus ou moins vite.

Nous avons soumis le sérum de cheval, source de cholinestérase, à l'action de diverses concentrations d'acide ascorbique. La décontraction du muscle traité par ce sérum vitaminé, se fit dans pratiquement le même temps que celle obtenue par le sérum normal.

Là encore,*la cholinestérase ne subit ni inhibition, ni activation par l'acide ascorbique.*

3. *Méthode du cœur isolé d'Escargot.* Gautrelet et Halpern (1936) ont montré que l'acétylcholine arrête le cœur isolé d'Escargot. Si l'on ajoute dans le bain de perfusion une certaine quantité d'hémolymphe du même animal, la cholinestérase, contenue dans cette hémolymphe en assez forte concentration, inactive l'acétylcholine, et le cœur reprend son automatisme.

Nous avons imaginé de traiter l'hémolymphe par divers inhibants et activateurs de la cholinestérase et mesurer les inhibitions ou les accélérations obtenues par le temps que le cœur met à reprendre ses battements, temps que l'on compare avec celui d'un essai témoin réalisé avec une hémolymphe non traitée.

En ce qui concerne l'acide ascorbique, les résultats sont très contradictoires : On constate tantôt des activations, tan-

tôt des inhibitions, mais le plus souvent, *l'acide ascorbique n'exerce aucune influence sur l'activité de la cholinestérase de l'hémolymphe d'Escargot.* (voir fig. 1).

Fig. 1

b) *Méthode bio-chimique*

Nous avons adopté pour nos dosages la méthode décrite par Hall et Lucas (1937).

Diverses concentrations d'acide ascorbique (1 p. 100 ; 1 p. 1,000) sont ajoutées au sérum de cheval, qui nous sert de source enzymatique, pendant 15-30 minutes. Le mélange est mis à 37° pendant ce temps.

Ces concentrations d'acide ascorbique ne changent rien à la vitesse de saponification de l'acétylcholine.

c) *Méthode toxicologique*

Nous avons injecté à des Cobayes par voie sous-cutanée la dose de 0,2 g/kg d'ascorbate de Na par jour, pendant 5 jours. Le sang de ces cobayes était prélevé par ponctions cardiaques successives avant et après les injections.

Nous avons ainsi pu constater que la cholinestérase du sérum de cobaye ne subit aucune activation dans ces conditions. Donc, la *surcharge en vitamine C n'augmente pas le taux de ce ferment, s'il est initialement à son niveau normal.*

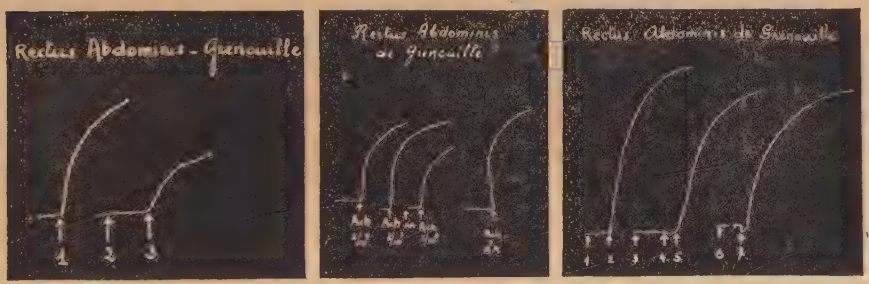
Il en est de même chez l'Homme. Nous avons injecté par

voie intraveineuse, à des sujets normaux, 0,50 à 1,0 gr d'acide ascorbique par jour, pendant 6 à 8 jours, sans observer de changements du taux de la CHE sérique.

Premières conclusions : De l'ensemble de ces recherches, nous devons conclure que la cholinestérase intacte du sérum de Cheval, de celui du Cobaye, du muscle dorsal de la Sangsue et de l'hémolymphe d'Escargot, ne subit aucune modofication fonctionnelle lorsqu'elle est en contact plus ou moins prolongé avec l'acide ascorbique, à diverses concentrations.

Réaction du rectus abdominis de Grenouille à l'acétylcholine

Nous avons repris les mêmes recherches sur le muscle rectus abdominis de Grenouille et nous avons pu constater que la cholinestérase de ce muscle, cholinestérase fonctionnant normalement, se laissait activer par la vitamine C.



a b c

FIG. 2

La figure 2a montre une telle expérience : en 1, étalonnage du muscle à l'acétylcholine (0,2 v/ccm) ; en 2, traitement du muscle par de l'ascorbate de Na (2 mg/ccm) et en 3, nouvelle dose d'acétylcholine à 0,2 v/ccm : la contraction est bien plus faible et sa pente est plus déclive (contraction plus lente).

La nécessité du traitement préalable par l'acide ascorbique est démontrée par l'expérience représentée par la figure 2b. Les deux premières courbes représentent l'étalonnage du muscle avec l'acétylcholine à 1/5.000.000. Puis on met, comme ci-dessus, le muscle en contact avec de l'acide ascorbique pendant 5 minutes (2 mg/ccm). Nouvelle dose étalon d'acétylcholine : la contraction est plus faible. Après lavage et décontraction, on traite le même muscle par un mélange d'acide ascorbique et d'acétylcholine aux mêmes doses que ci-dessus : la contraction est semblable et même plus forte que lors du premier étalonnage.

Nous avons également vérifié s'il ne s'agissait pas d'une action directe de l'acide ascorbique sur l'acétylcholine : nous avons mis en contact à l'étuve à 37° C un mélange de ces deux

corps pendant 15 minutes, puis nous avons traité par ce mélange un muscle étalonné par la même dose d'acétylcholine. Les courbes étaient identiques.

Nous en conclurons que pour obtenir une « désensibilisation » à l'acétylcholine du muscle de Grenouille, celui-ci doit être traité pendant une certain temps par l'acide ascorbique *avant* l'adjonction d'acétylcholine.

Afin de savoir si cette « désensibilisation » se produit par l'intermédiaire de la cholinestérase du muscle, nous avons fait l'expérience suivante (figure 2c) :

1 = Esérine à 1/25.000 pendant 20 minutes. 2 = Acétylcholine à 1/5.000.000 : on obtient une belle contraction. Après lavage et détente du muscle, 3 = Esérine à 1/25.000 pendant 3 minutes, puis 4 = ascorbate de Na à 2 mg/ccm pendant 3 minutes également. 5 = dose étalon d'acétylcholine : la contraction est pratiquement aussi haute que la première.

Après de nouveaux lavages, 6 = ésérine à 1/25.000 pendant 3 minutes, et 7 = dose étalon d'acétylcholine : la contraction est identique à la précédente.

L'expérience avec l'acide ascorbique est donc encadrée par deux étalonnages et se place entre les deux quant à la hauteur de la contraction. Nous pouvons donc dire que les trois courbes ont la même valeur physiologique.

Nous interpréterons ces faits de la manière suivante : L'ésérine qui est l'inhibiteur le plus puissant de la cholinestérase se fixe fermement sur l'enzyme musculaire. L'acide ascorbique, qui est relativement faible en tant qu'activateur, ne peut vaincre cette inhibition. Par conséquent l'effet acétylcholinique s'exerce au maximum dans les trois essais de l'expérience.

Nous en conclurons que c'est bien par le mécanisme cholinestérasique que la vitamine C « désensibilise » le muscle de Grenouille.

En résumé, la vitamine C active la cholinestérase du muscle de Grenouille et le rend par conséquent moins sensible à l'action acétylcholinique.

LA CHE DANS LE SCORBUT EXPERIMENTAL

Nous avons soumis un lot de Cobayes à un régime carencé en vitamine C (régime scorbutigène de Bezssonoff) ; comme le Cobaye est incapable de synthétiser l'acide ascorbique, le taux de la vitamine C baisse rapidement dans les tissus pour disparaître totalement après 12 jours de régime. Jusqu'au 20e jour, l'avitaminose est reversible, c'est-à-dire que l'administration d'acide ascorbique fait regresser les phénomènes morbides de la carence. Mais, dès le 21e, en général, la carence crée des lésions telles que la vitamine C ne peut plus les modifier. Dans la règle générale, l'animal meurt du scorbut entre le 25e et le 30e jour de régime scorbutigène.

Parallèlement à la disparition de l'acide ascobique des organes, on assiste à une chute progressive du taux de la CHE sérique du Cobaye, et cela jusqu'au 24e jour de carence ; puis, ce taux tend légèrement à remonter jusqu'à la mort de l'animal (tableau 1).

TABLEAU I

Cobaye mâle	CHE avant la carence 2,60 CHE après 23 jours 1,52	= baisse 42 %	poids : 360 g. poids : 310 g.
Cobaye mâle	CHE avant la carence 1,66 CHE après 24 jours 1,03	= baisse 38 %	poids : 790 g. poids : 670 g.
Cobaye mâle	CHE avant la carence 1,93 CHE après 29 jours 1,45	= baisse 25 %	poids : 405 g. poids : 302 g.

(Méthode de Hall et Lucas)

Si l'on fait, pendant la phase de carence reversible, une seule injection de 0,05 gr. d'ascorbate de Na, on constate que le taux cholinestérasique remonte brusquement ; 24 heures après l'injection, il a retrouvé son niveau initial (tableau II).

TABLEAU II

Cobayes	Poids	CHE avant la carence	CHE pendant la carence (15e j.)	CHE 24 h. après inj. de 0,05 gr. de vit. C.
Femelle.....	345	3,21	1,55	3,01
Femelle.....	450	2,85	1,60	2,90
Femelle.....	420	2,45	1,35	2,10

Cette baisse de la CHE dans le scorbut, que nous avons été le premier à signaler, rentre dans le cadre de l'hypoactivité des lipases et des estérases communes au cours de cette carence.

En effet, dès 1924, Palladin et Normark (1924) ont observé que l'estérase hépatique subit une baisse progressive au cours du scorbut expérimental du Cobaye, alors que la catalase, la protéase et la péroxydase restent inchangées.

Bori et Cera (1939) constatent que la baisse de la lipase intestinale chez le Cobaye scorbutique est de 21 %, alors que celle de l'amylase atteint 32 %.

Enfin, Harrer et King, reprenant cette étude en 1941, montrent que l'estérase hépatique est abaissée de 32 % chez les scorbutiques.

Comme on peut le conclure de ces recherches, la CHE subit le sort des autres enzymes hydrolysant les esters (estérases communes et lipases) dans la carence en vitamine C chez le Cobaye. La présence d'acide ascorbique est donc nécessaire au bon fonctionnement de ces ferments et on peut le considérer comme un activateur physiologique de ceux-ci.

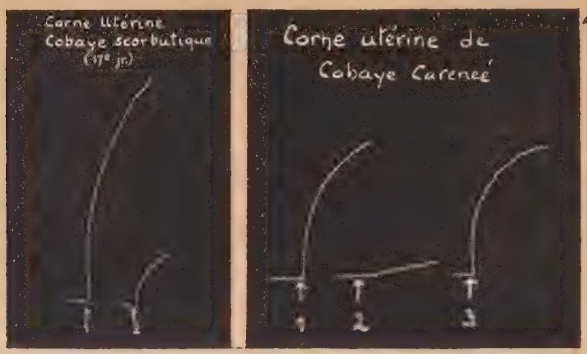
Réactivité à l'acétylcholine des organes scorbutiques

Nous avons montré que la cholinestérase chez le Cobaye scorbutique est partiellement inhibée. En d'autres termes, l'on obtient par le régime scorbutigène des organes dont la réactivité à l'acétylcholine est semblable à celle d'organes ayant subi une ésérination partielle : ils sont beaucoup plus sensibles à l'action de l'acétylcholine que ceux de Cobayes à taux vitaminique C normal.

Afin de controler cette hypothèse de travail nous avons institué les expériences suivantes :

1° *Corne utérine de Cobaye scorbutique*

La figure 3a représente une de nos expériences. On a prélevé une corne utérine d'un Cobaye carencé au 17e jour de



a b

Fig. 3

régime et on l'a suspendu au myographe dans les conditions habituelles de la perfusion d'organes d'animaux à sang chaud.

En 1, on teste la réactivité de la corne à une dose étalon d'acétylcholine (1/1.000.000, soit 1 v/ccm). Après lavage par du Tyrode et la décontraction complète de l'organe, nous traitons celui-ci pendant 5 minutes par l'ascorbate de Na à 1 mg/ccm.

Si à ce moment on ajoute dans le bain de perfusion la dose étalon d'acétylcholine (1 v/ccm), la contraction du muscle utérin est infiniment plus faible. La vitamine C « *désensibilise* » donc la corne utérine à l'action de l'acétylcholine : elle exerce un pouvoir inverse à celui de l'ésérine.

La même expérience pratiquée sur la corne utérine prélevée sur un Cobaye normal donne des contractions identiques avant et après traitement par l'ascorbate de Na.

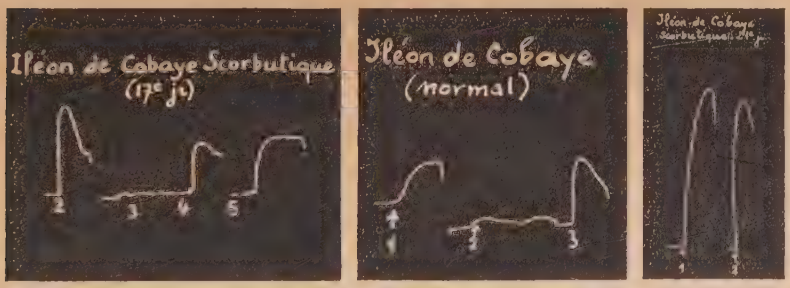
Bien que connaissant toute la relativité de tels calculs, nous avons essayé de mesurer cette augmentation de sensibilité de l'organe scorbutique. La figure 3b montre une corne utérine

de Cobaye carencé au 14e jour. En 1, contraction par l'acétylcholine à 1/5.000.000. Après 2 lavages et décontration complète, on met la préparation en contact avec une solution d'ascorbate de Na à 4 mg/ccm pendant 10 minutes. En 2 on ajoute à nouveau la quantité étalon d'acétylcholine (0,2 v/cc) : la contraction est tout à fait minime. Après de nouveaux lavages, nous traitons le muscle par des solutions d'acétylcholine de plus en plus concentrées et nous pouvons voir, en 3, que c'est une concentration de 1/1.000.000 (1 v/ccm) soit 5 fois plus forte que la solution étalon, qui est nécessaire pour obtenir une contraction aussi haute que la première.

Il semble donc, et cela avec toutes les réserves, que l'organe carencé en vitamine C est environ 5 fois plus sensible à l'acétylcholine que l'organe vitaminé.

2° *Iléon de Cobaye scorbutique*

Nous avons fait sur un fragment d'iléon les mêmes essais que sur la corne utérine. Cet organe est moins sensible normalement à l'acétylcholine que l'utérus, les courbes sont moins élevées et les doses doivent être plus fortes.



a b c

Fig. 4

La figure 4a représente en 2 la contraction du fragment d'iléon par l'acétylcholine à 1/250.000 (Cobaye scorbutique au 17e jour de carence). Après lavage et décontraction, on traite la préparation par de l'ascorbate de Na (2 mg/ccm) pendant 5 minutes (3). En 4, on remet la dose étalon d'acétylcholine (4 v/ccm) : la contraction est plus faible que la première, obtenue avant vitaminisation. Après plusieurs lavages, cette « désensibilisation » persite (5).

Une expérience de contrôle sur un fragment d'iléon de Cobaye normal est montrée par la figure 4b. 1 = étalonnage avec de l'acétylcholine à 1/100.000. Comme on peut le voir cette concentration est supérieure à celle employée dans l'expérience précédente. Après lavage et décontraction, on ajoute en 2 de l'ascorbate de Na à la concentration de 2 mg/ccm pendant 5 minutes.

En 3, nouvelle dose étalon (1/100.000) d'acétylcholine. La contraction est identique (et même un peu plus marquée) à la première.

Par contre, si l'on travaille sur un iléon de Cobaye au stade de scorbut irréversible (à partir du 20e jour de carence), la « désenbilisation » par la vitamine C ne se produit que peu ou ne se produit pas du tout. Sur la figure 4c nous voyons un iléon de Cobaye carencé au 21e jour, étalonné avec de l'acétylcholine à 10 v/ccm (1). Après lavage et décontraction, on ajoute 2 mg/ccm d'ascorbate de Na pendant 5 minutes et on teste à nouveau la préparation avec la dose étalon d'acétylcholine (2). La contraction est à peine plus faible que la première. Tout se passe comme si l'iléon de Cobaye à la phase irréversible du scorbut n'arrivait plus à fixer l'acide ascorbique.

En résumé, cette série expérimentale nous montre que les organes de Cobayes scorbutiques sont plus sensibles à l'acétylcholine. Ce fait est vraisemblablement dû a une hypo-activité carentielle de la cholinestérase de ces organes. L'acide ascorbique réactivant cette cholinestérase inhibée par la carence diminue cette hypersensibilité (cette « pseudo-ésérination ») des organes.

Mais lorsque cette vitamine ne peut plus se fixer dans les cellules (stade irréversible de la carence), la réponse à l'acétylcholine reste forte malgré le bain d'acide ascorbique.

VARIATIONS SAISONNIERES DE LA CHE CHEZ LE COBAYE

Les recherches relatées dans les chapitres précédents rendent certaine l'influence de la richesse de l'organisme en vitamine C sur l'activité cholinestérasique. Or, nous savons que le taux de l'acide ascorbique dans les tissus du Cobaye subit des variations saisonnières (Frommel et Loutfi) : les valeurs en acide ascorbique tissulaire de cet animal sont bas en hiver (minimum en février) puis montent progressivement pour atteindre leur maximum en octobre. Ces variations, suivant les organes, peuvent aller jusqu'au sextuple.

Ces variations se répercutent-elles sur le taux de la CHE sérique ?

Nous avons dosé de mois en mois la CHE chez un certain nombre de Cobayes et nous avons ainsi pu constater également des fluctuations saisonnières du taux enzymatique, fluctuations se faisant, grosso modo, dans le même sens que celles de la vitamine C.

Dans une première série, nous avons dosé, de décembre 1942 à avril 1943, parallèlement la vitamine C et la CHE chez les mêmes animaux. Les résultats de cette série sont exprimés dans le tableau III.

TABLEAU III

	Cobayes moy. de 3 animaux	mg. Acide ascorbique par g. de tissu frais				CHE du sérum
		Foie	Rein	Poumon	Cerveau	
XII /1942	396 g	0,03	0,04	0,03	0,05	0,91
I /1943	430 g	0,04	0,05	0,06	0,06	1,86
II /1943	730 g	0,07	0,07	0,06	0,07	2,45
III /1943	550 g	0,05	0,06	0,08	0,06	2,93
IV /1943	470 g	0,05	0,06	0,11	0,07	3,77

La CHE du sérum est exprimée en NaOH n /100 et mesurée par la méthode de Hall et Lucas.

Il existe donc un certain parallélisme entre l'acide ascorbique des organes et la CHE sérique chez le Cobaye, mais sans que l'on puisse pour cela, comme il ressort du tableau III, formuler une loi de proportionnalité fixe.

Dans une deuxième série, nous avons repris l'étude des variations saisonnières de la CHE sérique sur une plus vaste échelle et sur un temps plus prolongé.

Nous résumons les résultats de cette série, qui porte sur 249 animaux et sur un laps de temps de 20 mois, dans le tableau IV.

TABLEAU IV

Date du dosage		Poids moyen en g	CHE en ccm NaOH 0,01 N en 20'	Nombre de cobayes
Décembre	1942	395	1,91	6
Janvier	1943	430	1,86	6
Février	1943	730	2,45	8
Mars	1943	550	3,04	9
Avril	1943	470	3,77	10
Mai	1943	440	2,74	15
Juin	1943	460	2,63	16
Juillet	1943	580	3,44	3
Août	1943	—	—	—
Septembre	1943	490	2,47	11
Octobre	1943	520	2,90	24
Novembre	1943	465	2,57	19
Décembre	1943	480	2,28	17
Janvier	1944	650	2,10	22
Février	1944	450	2,28	16
Mars	1944	525	2,88	28
Avril	1944	590	2,50	8
Mai	1944	495	2,56	19
Juin	1944	500	2,40	2

Dans ce tableau, on peut voir que les taux de CHE sérique du Cobaye sont en moyenne plus bas en hiver qu'au printemps et en été, ce qui confirme nos premières données. Bien entendu, les différences d'un Cobaye à l'autre sont assez grandes et nous supposons que les souches et les conditions de nourriture des animaux doivent intervenir d'une manière importante.

Il existe donc une variation nette de la CHE sérique du Cobaye au cours des saisons. Mais cette variation n'est pas

toujours parallèle à celle de l'acide ascorbique. D'autres facteurs doivent jouer un rôle important : entre autres, la température ambiante et l'état sexuel des animaux.

Mais ces éléments ne sont que secondaires par rapport à l'influence de la saturation de l'organisme en vitamine C. Une constatation analogue a pu être faite par HIMMELREICH (1938), puis par ENTIN (1939) sur la lipase hépatique. Le pouvoir lipolytique du foie de Cobaye est 3 fois plus grand en été (juin-juillet) qu'en octobre - novembre. Ces variations sont parallèles aux teneurs en acide ascorbique du foie pour ces animaux.

Là encore, comme pour le scorbut, la CHE subit le sort des autres ferments estérasiques.

Quelques mois après notre première note sur les variations saisonnières de la CHE chez le Cobaye, WATTENWYL, BISSEGGER, MARITZ et ZELLER (1943) ont également constaté ces variations mais dans un sens inverse du nôtre, c'est-à-dire avec un minimum en juillet-août. Ces variations se limiteraient aux mâles seulement.

Comme il s'agit d'une opposition totale de leurs recherches et des nôtres, nous avons étudié à nouveau notre matériel expérimental : nous n'avons pas pu constater de différence, dans ces variations saisonnières, entre les mâles et les femelles.

D'autre part, nos chiffres de juillet et de septembre ne sont pas particulièrement bas, comme l'indiquent *v.* WATTENWYL et ses collaborateurs ; ils sont en tous cas nettement plus élevés qu'en décembre et janvier.

Pour l'instant nous ne saurions nous prononcer sur la cause de la divergence des résultats de ces auteurs et des nôtres. Il ne peut s'agir de différence de méthodes, puisque ces variations ne sont que des faits comparatifs. Par contre, il est possible que les souches de Cobayes et leur nourriture soient différentes.

Quant à la cause des variations saisonnières, nous avons admis d'abord qu'il s'agissait d'une relation stricte entre la teneur en acide ascorbique des tissus et le taux de la cholinestérase. Mais nous nous sommes aperçu que d'autres facteurs doivent intervenir dans cette régulation : en particulier d'autres influences saisonnières (température, etc.) et l'état sexuel sur lequel ZELLER a insisté.

En effet, nous savons par les travaux de cet auteur que les hormones génitales activent le fonctionnement de la cholinestérase chez le Cobaye. Comme ces animaux présentent des périodes d'activité génitale plus prononcée au printemps et en automne, il est possible que ces périodes retentissent sur le taux de la cholinestérase sérique.

Mais ces réserves, pour justifiées et importantes qu'elles

soient, ne doivent pas mettre à l'arrière-plan le rôle de l'acide ascorbique et de ses variations saisonnières qui influent pour une large part sur la cholinestérase sérique.

CHE DANS L'HYPOVITAMINOSE MEDICAMENTEUSE

Une autre preuve de la dépendance de la CHE de l'acide ascorbique peut être trouvée dans les expériences d'hypovitaminose médicamenteuse. Frommel a montré qu'un très grand nombre de médicaments créent, chez le Cobaye, des états hypovitaminiques C, soit en détruisant la vitamine, soit en se combinant avec elle et la rendant ainsi inactive.

Pour n'illustrer ce fait que d'un exemple, il suffit de se rappeler le syndrome scorbutique qui se produit lors de l'intoxication bismuthique (troubles de la coagulation sanguine, stomatite avec gingivorragies, dénutrition, etc.).

Or, si notre théorie de la dépendance de la CHE de la vitamine C est juste, l'hypovitaminose médicamenteuse doit également entraîner une hypofonction enzymatique.

Voici quelques exemples, choisis au hasard. Il s'agit de l'or, du plomb, de l'aluminium et de la papavérine.

Ci-contre, les taux de la vitamine C, dosée au dichlorophénolindophénol, dans certains organes et les chiffres correspondants de l'activité cholinestérasique du sérum des mêmes animaux, mesurés par la méthode de Hall et Lucas.

TABLEAU V

Toxique	Doses en g/kg	Poids du cob.	Mg. d'acide ascorbique par g. de tissu frais				CHE av. toxique	CHE ap. toxique	Baisse en %
			foie	rein	poumon	cerveau			
Au (Sanocrysine).....	4 × 0,01	465 g	0,05	0,03	0,06	0,04	4,30	2,16	50 %
	4 × 0,01	350 g	0,05	0,03	0,06	0,04	3,22	2,69	16 %
	8 × 0,01	565 g	0,05	0,03	0,06	0,04	3,20	1,90	40 %
	8 × 0,01	365 g	0,03	0,02	0,04	0,04	4,12	2,06	50 %
Pb (Acétate de triéthyle).....	5 × 0,005	470 g	0,03	0,02	0,05	0,08	3,40	2,10	39 %
	5 × 0,005	525 g	0,03	0,02	0,05	0,08	2,50	1,40	44 %
	2 × 0,010	600 g	0,05	0,04	0,04	0,04	3,22	1,52	53 %
Al (Sulfate)	2 × 0,01	590 g	0,04	0,05	0,04	0,06	2,05	1,65	20 %
	2 × 0,01	510 g	0,05	0,05	0,04	0,07	2,40	1,65	33 %
	2 × 0,01	475 g	0,05	0,04	0,05	0,06	2,60	2,11	19 %
Papavérine.....	3 × 0,20	550 g	0,05	0,04	0,06	0,08	3,50	1,95	45 %
	3 × 0,20	690 g	0,05	0,04	0,05	0,07	3,37	1,55	53 %
	3 × 0,20	540 g	0,05	0,04	0,06	0,06	3,20	1,59	50 %

De la lecture du tableau V, il ressort que les *médicaments qui provoquent une hypovitaminose C diminuent également l'activité de la cholinestérase sérique.*

Un fait intéressant dans ce domaine a été montré par Bersin, Raabe et Lauber (1938). Les injections de chlorure d'argent colloïdal, provoquent, chez le Cobaye, une chute du

taux de l'acide ascorbique des organes, car l'argent forme un complexe avec la vitamine C. On produit ainsi ce que les auteurs ont appelé le « *scorbut argentique* ». On peut constater parallèlement à l'hypovitaminose toxique une activité réduite de l'estérase hépatique, qui passe dans le sérum. La vitamine C est mobilisée dans les organes, passe dans le sang (taux de l'acide ascorbique du sang passagèrement augmenté), puis est éliminée par les urines.

Dans le « scorbut argentique », on constate donc une baisse de vitamine C et de l'estérase dans les organes et une hausse de ces éléments dans le sang.

Nous avons montré (Frommel, Herschberg et Piquet, 1944a) que l'ion Ag est un assez fort inhibiteur de la CHE sérique in vitro et in vivo. L'action de l'argent sur la CHE est donc double : inhibition par action directe de l'ion sur le ferment et inhibition indirecte de la CHE par hypovitaminose C toxique.

Action de l'ésérine. Si l'on inverse le problème, les relations entre les drogues inhibant la cholinestérase et le taux de l'acide ascorbique des organes, ne suivent pas le parallèlisme énoncé pour les médicaments hypovitaminosants.

En effet, pour ne prendre que l'exemple le plus typique et le plus connu des inhibiteurs de la cholinestérase, l'ésérine, celle-ci injectée à des Cobayes fait baisser de 75 % l'activité cholinestérasique du sérum, sans modifier en aucune manière l'état vitaminique C de l'animal. Ces faits sont illustrés par le tableau VI.

TABLEAU VI

Date	Poids	Cobayes traités à l'Eserine (0,005 g/kg) mg d'acide ascorbique par g de tissu frais				CHE du sérum
		Foie	Rein	Poumon	Cerveau	
16 avril	570 g	0,06	0,05	0,08	0,04	0,85
18 avril	520 g	0,06	0,06	0,03	0,06	1,48
		Cobaye non traité (témoin)				
20 avril	620 g	0,05	0,06	0,07	0,04	3,37

La CHE du sérum est exprimée en NaOH 0,01 N, et mesurée par la méthode de Hall et Lucas.

Ces faits sont du plus haut intérêt. Car nos constatations prouvent déjà, que si l'acide ascorbique influence le fonctionnement de la cholinestérase, l'inverse ne se produit pas.

Une substance qui bloque la cholinestérase peut rester sans influence quelconque sur la teneur en acide ascorbique des organes de cet animal.

Les relations entre l'acide ascorbique et la cholinestérase se font donc en sens unique, prouvant par là, l'influence métabolique de l'acide ascorbique sur ce ferment.

Cette constatation trouve sa place dans l'ordre thérapeutique, puisque l'acide ascorbique ne doit pas être considéré comme une médication monovalente des troubles de l'activité de la cholinestérase, mais de « certains » de ses inhibiteurs seulement.

INFLUENCE DE L'ACIDE ASCORBIQUE SUR LA CHOLINESTERASE INACTIVEE

Reste à résoudre un problème, qui nous parait très intéressant, celui du mécanisme d'action de la vitamine C dans les accidents d'intoxication et d'intolérance médicamenteuses. Nous avons vu au début de ce chapitre que l'acide ascorbique est capable d'enrayer les accidents du type vagotonique produits par l'injection de novarsénobenzol, de sels d'or, de bismuth, etc.

Nous nous posons dès lors la question de savoir si *l'acide ascorbique active une cholinestérase, non plus intacte, mais inhibée par l'action d'un corps thérapeutique et s'il peut contrecarrer ainsi le choc dû à cette inactivation.*

Nous avons donc injecté à des Cobayes des médicaments toxiques (or, arsenic) qui, d'après nos travaux antérieurs, donnent à la fois une hypovitaminose C et une baisse notable de l'activité de la cholinestérase.

Puis, lorsque nous avons pu constater une baisse marquée

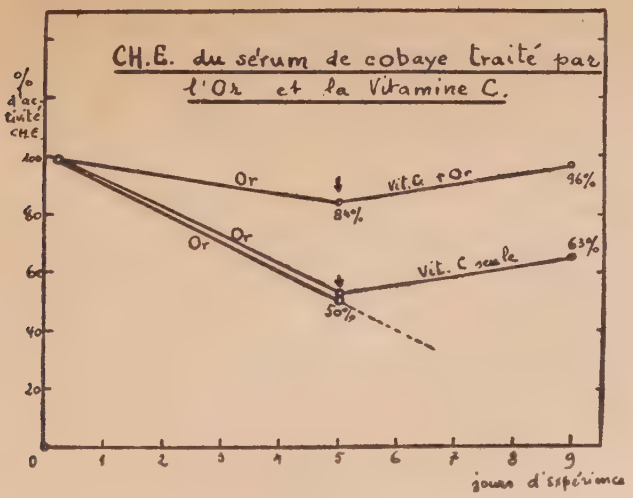


FIG. 5

de l'activité anti-acétylcholinique du sérum, nous avons injecté à ces animaux de l'acide ascorbique, concurremmeent ou non avec le toxique.

D'autres Cobayes continuaient à recevoir le toxique seul, et servaient ainsi de témoins.

Ces expériences sont celles qui intéressent le plus la thérapeutique, et la lecture des figures 5 et 6 montre que le taux de la cholinestérase des sérums des animaux traités par l'acide ascorbique se stabilise, malgré la continuation de l'intoxication, ou s'élève vers la normale, si l'on interrompt le traitement

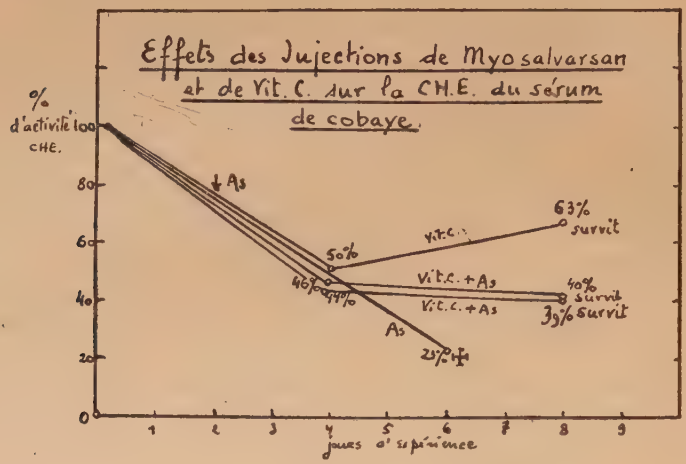


FIG. 6

toxique, alors que les animaux témoins voyaient leur pouvoir cholinestérasique baisser jusqu'à la mort. Nous déduisons de ces expériences les *conclusions suivantes :*

L'acide ascorbique est capable d'activer la cholinestérase inhibée par certains médicaments et s'opposer par là au choc acétylcholinique.

Plus généralement, nous pouvons dire que la cholinestérase est liée au métabolisme de l'acide ascorbique ; qu'au cours du scorbut expérimental nous constatons un taux abaissé de cholinestérase ; que ce ferment suit les variations saisonnières de la vitamine C ; que l'acide ascorbique n'influence pas cet enzyme intact, mais qu'il active par contre celui dont la fonction a été inhibée par certains médicaments.

DISCUSSION DES RESULTATS

Toutes nos recherches montrent donc une relation certaine entre l'acide ascorbique et le couple ACh-CHE. Cette relation entre l'enzyme et la vitamine est à sens unique, c'est-à-dire que la vitamine C conditionne, en partie du moins, l'activité de la CHE, mais que l'inverse n'est pas vrai. Ce dernier fait a été prouvé par nos expériences d'intoxication à l'ésérine.

Par quel mécanisme l'acide ascorbique intervient-il dans

la réactivation d'une CHE inhibée, alors qu'il n'a, en général, pas d'effet sur une CHE normale ? Est-ce par ce relai fermentaire qu'il est antagoniste de l'acétylcholine ?

1. *Mécanisme d'action de la vitamine C sur la CHE.*

Comme nous l'avons montré, les relations entre l'acide ascorbique et la CHE enterent dans le cadre général des relations de cette vitamine avec tous les ferments hydrolysant les esters (estérases et lipases). Nous pouvons donc raisonner par analogie.

Se basant sur la conception de Willstatter, de v. Euler et de leurs élèves sur le « symplex » fermentaire, v. Pantschenko et Kraut (1935) ont supposé que l'acide ascorbique servait de liaison entre le phéron et l'agon de l'estérase hépaque. En effet, ces auteurs sont arrivés à réactiver une estérase inactivée par l'absorption sur Kieselguhr en ajoutant à la préparation de l'acide ascorbique. D'autre part, ils ont observé que l'adjonction de vitamine C accroît le pouvoir hydrolytique de l'estérase hépatique et éveille même une activité dans un phéron d'estérase isolé et totalement inactif. D'autre part, ces auteurs constatent, dans les préparations d'estérase hépatique, la présence d'un corps réduisant le dichlorophénol-indophénol, qui doit être l'acide ascorbique. Il est intéressant de constater que l'acide ascorbique n'active pas une estérase intacte, mais n'agit que sur des ferments dont le phéron est presque libre d'agon.

Enfin, ces mêmes auteurs, en injectant de l'acide ascorbique dans les veines du Chien, constatent une augmentation de l'action hydrolytique de son sang laqué sur la tributyrine et le butyrate de méthyle. De plus, si on traite des Cobayes pendant 10 jours par 10 mgr d'acide ascorbique par jour, on peut voir une augmentation de l'activité de l'estérase hépatique, alors que la lipase pancréatique n'est pas touchée.

Se basant sur ces travaux, Scholz (1938) et ses élèves, Mosters (1936) et van Oordt (1936) ont montré que, chez l'Homme, l'acide ascorbique en injection ou en ingestion augmente le taux des estérases et des lipases hématiques. Cette hausse est d'autant plus marquée que le taux initial des ferments lipolytiques est bas : elle peut atteindre jusqu'à 100 % chez certains sujets.

Les travaux de Scholz et de ses élèves ont été confirmés par Krueger (1939) qui a montré l'augmentation des lipases sériques chez l'Homme après administration d'acide ascorbique, ainsi que par Gajdos (1939) qui constate que cette augmentation des lipases sériques par l'acide ascorbique ne se produit que chez des sujets à parenchyme hépatique intact.

Entin (1939) apporte d'autres arguments en faveur des relations entre les lipases tissulaires et l'acide ascorbique : si l'on fait un classement des diverses espèces animales suivant

l'activité lipolytique de leur foie, on trouve que ce classement correspond à la teneur du foie en acide ascorbique. Si on nourrit les Cobayes avec de l'acide ascorbique, la teneur des tissus en vitamine C augmente et également leur activité lipolytique. Enfin, comme nous l'avons déjà signalé, cet auteur a trouvé des variations saisonnières parallèles de la vitamine C et du pouvoir lipolytique chez ces animaux.

Ces relations directes entre l'acide ascorbique et les ferments hydrolysant les esters semblaient être un fait acquis et expliqué, lorsque MEERSON, puis STRACHITSKY et MEERSON (1939) ont vivement combattu la théorie de v. PANTSCHENKO et KRAUT, car ils n'ont pas réussi à reproduire leurs expériences.

En même temps, KERTESZ (1938) ne put retrouver ni l'activation des estérases in vitro par l'acide ascorbique, ni trouver de substance réduisant le di-chlorophénol-indophénol dans les préparations de ce ferment.

KRAUT (1938) reprenant ses anciennes expériences constate que l'acide ascorbique par lui-même exerce un certain pouvoir hydrolysant sur les esters et que l'activation obtenue avec v. PANTSCHENKO ne dépassait pas l'addition des effets de l'estérase inactivée et de ceux propres à la quantité d'acide ascorbique ajouté.

Dès lors, l'auteur revient sur son opinion première et nie l'activation de l'estérase par l'acide ascorbique. Les résultats de SCHOLZ seraient dûs à une néoformation de ferment sous l'influence de l'acide ascorbique se combinant avec des albumines : en effet, FELIX et MAGER ont constaté que le pouvoir lipolytique propre de l'acide ascorbique est fortement augmenté par sa liaison avec la clupéine.

En ce qui concerne la CHE, nous avons vérifié si l'adjonction d'acide ascorbique à l'acétylcholine accélère son hydrolyse spontanée : cela n'est certainement pas le cas.

Une autre théorie pourrait expliquer l'activation de la CHE inhibée par l'acide ascorbique : c'est le pouvoir oxydo-réducteur de la vitamine C. Il est permis de supposer que cette propriété intervient dans le fonctionnement de la CHE. D'autres corps, particulièrement les groupements SH-, tels le glutathion, sont activateurs de la CHE, comme l'ont montré NACHMANSOHN et LEDERER (1939, a, b.).

D'ailleurs, certains inhibiteurs de la CHE semblent n'agir qu'en se combinant, en inactivant les composés oxydo-réducteurs (Cu, I, alloxane, etc).

RAABE (1938) a constaté chez le Cobaye que l'injection d'acide ascorbique *ou de glutathion* augmente la teneur en estérase des divers organes. D'autre part, l'acide ascorbique active d'autres estérases, comme la phosphatase (THANNHAUSER, REICHEL et GRATTAN (1937).

Enfin, nous pouvons supposer que l'acide ascorbique est nécessaire au fonctionnement de la CHE en tant que neutrali-

sant des corps inhibiteurs, soit en formant des complexes avec des métaux, soit en modifiant le métabolisme des substances inhibitrices de la CHE.

2. *Mécanisme d'action sur les effets acétylcholiniques.*

Nous avons montré qu'en présence d'acide ascorbique, la réponse du muscle rectus abdominis de Grenouille à l'acétylcholine est diminuée. Ce mécanisme d'action de la vitamine C est bien plus facilement expliqué que le précédent. En effet, il s'agit bien de la stimulation de la fonction cholinestérasique comme le montre l'inactivité de l'acide ascorbique après forte ésérination, ainsi que l'augmentation de réactivité à l'acétylcholine des organes d'animaux carencés.

CONCLUSION

De cette série de recherches, nous pouvons conclure que la présence de l'acide ascorbique est nécessaire au bon fonctionnement de la CHE, dont il est *UN DES ACTIVATEURS PHYSIOLOGIQUES.*

Administration d'acide ascorbique à un animal dont la CHE a été préalablement inhibée, réactive l'enzyme et nous croyons que c'est là que réside un des mécanismes de l'action « désensibilisante » et anti-toxique de la vitamine C.

2. Vitamine B_1 et système acétylcholine-cholinestérase

Les relations entre la vitamine B_1, l'ACh et la CHE sont très complexes et ont donné naissance à une très abondante littératue, dont le caractère essentiel est d'être contradictoire. Il est toutefois acquis que cette vitamine joue un rôle très important dans la transmission de l'influx nerveux, car elle est libérée, lors de l'exitation nerveuse, tant dans le tronc nerveux lui-même que dans les synapses neuro-musculaires (Binet, Minz, Muralt, etc.).

Nous envisagerons successivement :

1° Le rôle physiologique de l'aneurine dans la transmission nerveuse ;

2° Les relations entre la CHE et l'aneurine ;

3° L'influence de l'aneurine sur les effets acétylcholiniques.

1° — *LE ROLE PHYSIOLOGIQUE DE L'ANEURINE DANS LA TRANSMISSION DES INFLUX NERVEUX*

Binet et Minz (1934, a, b, c, 1935, 1936), Minz et Agid (1937) ont constaté que, lors de l'excitation nerveuse, le tronc du pneumogastrique libère de l'aneurine. Celle-ci renforce l'action acétylcholinique sur les réactifs habituels de l'hormone. Muralt et Zemp (1943) notent que le nerf pneumogastrique excité contient 8 fois plus de « facteur de croissance » que le même nerf au repos. Pour Muralt, l'aneurine serait la deuxième substance d'action du nerf (la première étant l'ACh), que le nerf en activité libérerait en même temps que l'ACh.

2° — *ANEURINE ET CHE*

A. *Expériences in vitro.*

Des multiples travaux étudiant les effets de l'aneurine sur une préparation de CHE, nous pouvons tirer les conclusions suivantes (Glick et Antopol (1939 a), Suellmann et Birkhauser (1939) :

a) aux doses physiologiques, l'aneurine ne modifie pas l'activité de la CHE ;

b) avec des concentrations largement supra-physiologiques, elle inhibe in vitro la CHE des sérums de Cheval, de Rat et d'Homme, ainsi que la CHE extraite du muscle de Sangsue. L'inhibition ne dépasse jamais 50 à 60 %. En aucun cas, elle n'est totale ;

c) Le pyrophosphate d'aneurine (co-carboxylase) est un très faible inhibiteur, même à des doses excessives ; l'acétylaneurine est un peu plus inhibitrice, mais encore faible par rapport à l'aneurine proprement dite ;

d) Il s'agit d'une inhibition par compétition, due à la présence dans la molécule d'aneurine d'un groupement ammonium quaternaire ;

e) cette inhibition est purement théorique, car, en pratique, on n'atteint jamais, dans un organisme vivant, même la centième partie des doses-seuil de l'inhibition.

B. *Expériences in vivo.*

a) *La CHE dans l'avitaminose* B_1 — Lissak, Nagy et Kovacs (1943) constatent chez le Rat béribérique que la CHE des divers organes réagit différemment vis-à-vis de la carence. C'est ainsi que la CHE augmente fortement dans le sérum, fait qui est confirmé chez le Pigeon par Antapol, Glaubach et Glick (1939) ; elle augmente également dans l'intestin, mais baisse d'activité dans le cerveau et les troncs nerveux.

En somme, l'avitaminose B_1 provoque une perturbation d'activité de la CHE, sans que l'on puisse systématiser la variation produite.

b) *La CHE dans la surcharge vitaminique.* — Des injections de fortes doses d'aneurine chez l'Homme ne provoquent pas de modifications notables de l'activité cholinestérasique du sang. Les variations obtenues sont de trop faible amplitude pour permettre d'attribuer à l'aneurine un effet quelconque sur la CHE (Schaller, 1942).

3° — *L'INFLUENCE DE L'ANEURINE SUR LES EFFETS ACÉTYLCHOLINIQUES*

a) *Aneurine et toxicité de l'ACh.*

Diverses recherches (Erspamer, 1939 ; Nitzescu et Teodoru, 1941 ; Abderhalden et Abderhalden, 1942) montrent que :

— l'avitaminose B_1 rend les animaux (Pigeons et Rats) beaucoup moins sensibles à la toxicité de l'ACh ;

— un rétablissement du taux initial d'aneurine suffit pour rendre aux animaux carencés leur sensibilité première ;

— une surcharge en vitamine B_1 augmente la toxicité des doses sousliminaires d'ACh ; mais cette sensibilisation reste assez faible.

b) *Aneurine et réactivité des organes à l'ACh.*

— L'aneurine sensibilise vis-à-vis de l'ACh le *muscle dorsal antérieur de la Sangsue, ésériné ou non.* Cette sensibilisation est donc indépendante de la CHE (Minz et Agid, 1937 ; Byer et Harpuder, 1941) ;

— elle augmente l'effet de l'ACh sur le *cœur de Grenouille*, (Nitzescu et Teodoru, 1941) et sur les *vaisseaux périphériques* de cet animal (Brecht, 1940).

— *L'intestin isolé de Pigeon* béribérique est nettement hyposensible à l'ACh. Il est sensibilisé par l'aneurine (Abderalden et Abderhalden, 1938 ; Erspamer, 1939).

— *L'intestin de Rat* est sensibilisé par l'aneurine, alors que celui de Cobaye et de Lapin réagit envers l'ACh de la même manière, avant ou après l'apport de vitamine B_1 (Agid, Beauvallet et Minz 1937 ; Byer et Harpuder, 1941).

— Sur *l'utérus isolé de Cobaye,* l'aneurine exerce une action antagoniste à celle de l'ACh (Erspamer, 1939).

— L'action de l'ACh est également renforcée par l'aneurine sur la T.A. du Chat et du Lapin (Erspamer, Nitzescu *et* Teodoru), et sur les muscles striés.

— Enfin, l'aneurine, qui renforce les actions biologiques de l'ACh est susceptible d'intensifier les effets des stimulations cholinergiques, comme par exemple l'excitation du pneumogastrique ou des fibres splanchniques qui commandent l'adrénalino-sécrétion.

DISCUSSION

De tous ces résultats, il est difficile de tirer des conclusions fermes. En effet, les techniques des différents auteurs, le matériel expérimental, les doses utilisées, les durées de contact sont essentiellement variables. Tout ce que l'on peut dire avec Minz (1939), c'est que l'aneurine, *dans certaines conditions expérimentales,* sensibilise les organes à innervation cholinergique vis-à-vis de l'ACh. De plus, cette sensibilisation ne se produit qu'à *une dose optimum d'aneurine.* Une dose inférieure à cet optimum reste sans action, alors qu'une quantité supérieure d'aneurine diminue ou supprime les effets acétylcholiniques.

Mais les doses sous-liminaires d'aneurine sont des centaines de fois plus fortes que celles que l'on peut rencontrer physiologiquement ou pathologiquement dans l'organisme.

Alors que la dose maxima d'aneurine qui existe dans le sang est de 0,9 γ/cc, il faut au moins une concentration de 10 à 100 γ/cc pour sensibiliser un organe à l'ACh et 100 à 1.000 γ/cc d'aneurine sont nécessaires pour inhiber l'action de l'ACh.

En pratique, l'aneurine ne joue donc aucun rôle dans l'action périphérique ou centrale de l'ACh. Le problème reste donc théorique, mais en tant que tel, il présente un intérêt évident. Par quel mécanisme se produisent cette sensibilisation et cette inhibition ?

A) *Sensibilisation par inhibition de la CHE.*

Ce mécanisme semble pouvoir être exclu d'emblée, car : 1° — la sensibilisation n'est pas identique à celle de l'ésérine, puisqu'il existe un optimum de concentration au dessus duquel on observe une inversion de l'effet, alors que la sensibilisation ésérinique est proportionnelle à la concentration de l'alcaloïde ;

2° — l'inhibition de la CHE par l'aneurine nécessité des concentrations de vitamine hors proportion avec les données physiologiques (Antopol et Glick, 1940 ; Minz, 1939) ;

3° — la sensibilisation par l'aneurine est identique, que l'on travaille sur des réactifs ésérinés ou non, c'est-à-dire que la CHE soit inhibée ou reste totalement active (Minz, 1939).

Cette dernière donnée a été confirmée par les recherches de Saviano (1942) qui a montré qu'en présence ou en absence d'aneurine à concentration moyenne, le sérum scinde identiquement l'ACh. D'autre part, si l'on met à l'étuve à 37° pendant 48 heures, du plasma mélangé à de la vitamine B_1, cette dernière garde totalement ses propriétés sensibilisatrices envers l'ACh. Ainsi, pas plus que le ferment n'est inhibé par la vitamine, celle-ci n'est attaquée par l'enzyme.

4° — L'aneurine renforce également l'action sur le muscle de Sangsue ésériné de l'ACh décomposée par la plasma sanguin, c'est-à-dire qu'elle sensibilise le muscle à l'action de la choline.

5° — L'aneurine potentialise également l'action du Cl^2Ba sur l'intestin et la corne utérine de Cobaye (Dufait, 1941).

B) *Action cholinergique de l'aneurine et de ses esters.*

La plupart des travaux que nous avons cités n'attribuent pas d'action propre à l'aneurine sur les divers réactifs de l'ACh.

Par contre les esters de l'aneurine semblent posséder des propriétés vagotoniques propres.

Riechert et Huebschmann (1939-40) indiquent que les actions de l'acétylaneurine et de la benzoylaneurine sont différentes suivant les organes et les espèces animales. Chez le Chat, ils ont un effet hypotenseur lent et progressif, parallèle à leur destruction par la CHE. Ils contractent faiblement l'intestin isolé de Rat.

Mais la qualité la plus marquée des esters de l'aneurine est précisément, non pas une action ACh-like, mais au contraire, antagoniste de l'ACh. (Dufait, 1941). Il est donc difficile d'admettre que la sensibilisation des substrats à l'ACh par l'aneurine soit due seulement à l'addition des effets de l'aneurine et de l'ACh.

C) *Compétition pour les récepteurs acétylcholiniques.*

Si l'on compare les formules chimiques de l'ACh et de l'aneurine, on constate aisément que les 2 substances présentent un radical ammonium quaternaire et une fonction alcool primaire. Les diverses études sur le mode de fixation de l'ACh sur ses substrats et sur la CHE montrent que cette fixation se fait précisément par la fonction ammonium quaternaire et secondairement par l'alcool (Clark, Raventos, etc.).

Si l'on met en présence du substrat l'ACh et l'aneurine, ces deux substances entreront en compétition pour se fixer sur les

récepteurs cellulaires de celui-ci. Le degré respectif de la fixation dépendra de l'affinité que présentent ces substances pour le substrat. Or, si l'on peut juger par la compétition pour la CHE, l'affinité de l'aneurine pour les récepteurs cellulaires est 26 fois plus forte que celle de l'ACh.

L'aneurine se fixera donc avant l'ACh sur un certain nombre de récepteurs cellulaires. Il suffira ensuite d'une moindre dose d'ACh pour déclencher l'effet maximum, car tous les éléments entreront en jeu.

C'est là, croyons-nous, que réside le mécanisme de la sensibilisation des substrats à l'ACh par l'aneurine.

L'effet inhibiteur de fortes doses d'aneurine peut également être expliqué par le même mécanisme : les fortes quantités d'aneurine saturent tous les récepteurs acétylcholiniques et l'ACh n'arrive plus à se fixer sur ceux-ci pour produire son action.

C'est encore par ce processus que l'on comprend l'inhibition de la CHE par l'aneurine et ses esters. Non seulement l'aneurine occupe les pôles récepteurs du ferment et empêche la fixation de l'ACh, mais encore ses esters sont saponifiés par la CHE, bien que plus lentement que l'ACh.

En effet, Massart et Dufait (1939) et Suellmann et Birkhaeuser (1939) ont simultanément constaté que l'acétylaneurine est décomposée par la CHE. Cette attaque enzymatique peut être étudiée par la méthode d'Ammon, sur l'appareillage de Warburg. L'acétylaneurine est scindée par toutes les solutions capables d'hydrolyser l'ACh. Cette scission est empêchée par l'ésérine (inhibiteur spécifique de la CHE) ou par le FNa et l'arsénite et cela dans les mêmes proportions que la saponification de l'ACh (Massart et Dufait, 1940). Enfin, la scission enzymatique de l'acétylaneurine est empêchée par la dialyse et réactivée par adjonction d'ions Ca...

Il semble donc certain que l'hydrolyse de l'acétylaneurine soit le fait de la CHE. Mais la CHE attaque ce composé beaucoup plus lentement (environ dix fois) que l'ACh.

Nous conclurons que *la sensibilisation et l'inhibition des actions acétylcholiniques par l'aneurine et ses esters sont dues à la compétition entre l'hormone et la vitamine pour les récepteurs cellulaires ou enzymatiques.*

CONCLUSIONS

Les relations entre l'aneurine et le système ACh-CHE peuvent se résumer en une double action :

1. La vitamine B_1 intervient dans la synthèse de l'ACh et se trouve, par conséquent, intimement liée au métabolisme de cette dernière. Il se produit un dégagement d'aneurine concomitant à la libération d'ACh par le tissu nerveux.

2. L'aneurine entre en compétition avec l'ACh pour ses récepteurs tissulaires et enzymatiques, cette compétition entraînant :

a) sur les effecteurs, une synergie à faibles doses et un antagonisme à fortes doses d'aneurine ;

b) Sur la CHE, une inhibition de l'enzyme, mais avec des concentrations si fortes qu'elles ne peuvent avoir de signification physiologique.

3. Vitamine B_2 (Lactoflavine) et Cholinestérase

Il ne semble pas que la lactoflavine influence l'activité de l'ACh sur ses réactifs biologiques. D'après RIECHERT et SCHMID (1942), elle ne modifie pas non plus le fonctionnement de la CHE (extraite du muscle de Sangsue).

Nous-même avons recherché l'action de cette vitamine sur la CHE du sérum de Cheval in vitro.

Nous avons mis en contact diverses concentrations de lactoflavine avec du sérum de Cheval non dilué à l'étuve à 37° C pendant une demi-heure. Puis, nous avons dosé, par la méthode de HALL et LUCAS, l'activité de la CHE. Les résultats sont exprimés en cc de NaOH 0,01 N en 20 minutes.

MÉLANGE	Activité de la CHE (mét. Hall-Lucas)	Différence
0,5 cc. sérum de cheval (témoin).....	3,85	
0,5 cc. — + 0,25 mgr. Lactoflavine.	4,48	+ 17 %
0,5 cc. — + 0,05 mgr. —	3,83	0
0,5 cc. — + 0,005 mgr. —	3,86	0

Il en résulte que seules de très fortes concentrations de lactoflavine activent très légèrement la scission enzymatique de l'ACh. Des doses moindres, mais encore fortes (100 γ/cc) n'ont plus aucun effet sur le ferment.

4. Vitamine B6 (PP ou amide de l'acide nicotinique) et le système ACh-CHE

Businco (1940) a montré, le premier, que l'amide nicotinique possède des propriétés antagonistes de l'histamine et de l'acétylcholine sur l'intestin isolé de Cobaye. En effet, l'adjonction de 0,10 gr/cc de vitamine anti-pellagreuse au bain de perfusion de l'intestin isolé de Cobaye, supprime totalement la réponse de cet organe à 10 v/cc d'ACh et il faut augmenter la concentration d'ACh à 2 à 15 mgr d'ACh pour produire une contraction assez faible.

Quant au mode d'action de l'amide nicotinique, la question reste encore ouverte.

Il ne peut s'agir d'un antagonisme direct entre l'ACh et la vitamine. Par contre, nous admettons volontiers une compétition entre les deux substances pour les éléments effecteurs, dans ce cas, les fibres musculaires du tractus intestinal. Ce serait un effet du type atropinique. La vitamine, ayant une plus forte affinité pour les récepteurs tissulaires, se fixerait sur ceux-ci de préférence à l'ACh et empêcherait ainsi cette dernière de produire ses effets physiologiques. Toutefois, une très forte concentration d'ACh arriverait à déplacer l'amide nicotinique de ces récepteurs et à s'y fixer elle-même.

L'action de l'amide nicotinique est donc différente de celle de l'effet anti-acétylcholinique de l'histidine, qui active la CHE.

Nous avons, en effet, exploré l'action de la nicotylamide sur la CHE du sérum de Cheval in vitro et nos résultats montrent que de fortes concentrations de vitamine freinent l'activité de l'enzyme, alors que de faibles doses restent sans influence.

Voici nos résultats :

Mélange (contact 30 min. à 37°C. Sérum non dilué)	Activité de la CHE (méth. Hall-Lucas)	Différence
0,5 cc. sérum de cheval (témoin).....	3,90	
0,5 cc. — + 0,025 mgr. Vit. PP.....	3,47	—13 %
0,5 cc. — + 0,0025 mgr —	3,56	—9,5 %
0,5 cc. — + 0,00025mgr —	3,80	—2 %

Il ressort de cette série que seules de fortes doses de vitamine PP freinent l'activité de la CHE. Cette inhibition légère est probablement due à la compétition de la vitamine et de l'ACh pour les récepteurs enzymatiques. Toutefois, nous croyons que l'affinité de cette vitamine pour les récepteurs fermentaires est bien plus faible que celle pour les récepteurs tissulaires.

5. Vitamine K et Cholinestérase

Nous avons utilisé la préparation Synkavit de la maison Hoffmann-La Roche, titrant 0,01 gr de vitamine K par cc et dissoute dans du phosphate de Na (solvant inactif sur la CHE).

Mélange (contact 30 min. à 37°C. Sérum non dilué)	Activité de la CHE (méth. Hall-Lucas)	Différence
0,5 cc. sérum de cheval (témoin).....	3,90	
0,5 cc. — + 0,055 mgr Synkavit.	3,32	—15 %
0,5 cc. — + 0,0005 mgr —	3,35	—14,5 %
0,5 cc. — + 0,00005 mgr —	3,50	—10 %
0,5 cc. — + 0,000005 mgr —	3,80	— 2,5 %

Donc, l'inhibition de la CHE par la vitamine K est assez marquée, puisque l'inhibition de 15 % est obtenue avec une concentration de 1 γ/cc et qu'elle est encore sensible (10 %) avec 0,01 γ/cc.

6. Vitamine E et Cholinestérase

L'avitaminose E entraîne, en dehors de la stérilité, des troubles musculaires marqués qui peuvent faire soupçonner une dysfonction de la CHE. Bloch (1942) a exploré l'activité fermentaire du sérum, du foie et du cerveau de Rats, soumis au régime carencé en vitamine E. Puis, il a étudié l'effet des injections de cette vitamine (d, l-alpha-tocophérol) sur le taux cholinestérasique des animaux carencés.

Bloch a ainsi pu constater que l'avitaminose E (Rats femelles en carence pendant 1 à 12 mois) entraîne une nette baisse de l'activité cholinestérasique du cerveau : de 30 % ; du foie : de 25 % ; du sérum : de 25-30 %.

Le traitement de ces animaux par l'acétate de d, l-alpha-tocophérol provoque le retour du ferment à son taux initial.

La chute d'activité enzymatique ne se manifeste que lentement et n'est marquée qu'à partir de 3e mois de régime carentiel.

Il semble que cette inactivation de la CHE soit due directement à la carence vitaminique, car cette carence n'entraîne pas d'insuffisance folliculinique qui, comme l'a montré Zeller (1942, 1943) baisse l'activité fermentaire.

L'hypervitaminose E d'animaux sains ne donne pas de variation de la CHE sérique. Nous avons injecté à des Cobayes entiers, mâles et femelles, un mgr/kg de vitamine E par jour, pendant 8 jours, sans trouver de modification d'activité de leur CHE sérique.

Ayant eu à notre disposition une préparation hydrosoluble de vitamine E, nous avons pratiqué des essais d'action de cette vitamine sur la CHE sérique du Cheval in vitro.

Mélange (contact : 30 min. à 37°C.)	Activité de la CHE (méth. Hall-Lucas)	Différence
0,5 cc. sérum de cheval (témoin)	3,85	
0,5 cc. — + 0,5 mgr Vitamine E.	2,15	—45 %
0,5 cc. — + 0,1 mgr —	2,98	—24 %
0,5 cc. — + 0,01 mgr —	3,58	— 7 %
0,5 cc. — + 0,001 mgr —	3,71	— 4 %

La vitamine E inhibe donc la CHE in vitro. On ne peut par conséquent, pas admettre une action directe de la vitamine sur la CHE in vivo. La carence en tocophérol chez l'animal n'entraîne une inactivation de la CHE par une voie indirecte que nous connaissons mal. On ne peut considérer la vitamine E comme un activateur physiologique de la CHE.

Le système ACh-CHE et les glandes endocrines

I. Généralités

Les glandes endocrines sont commandées, non seulement par la sécrétion d'autres glandes, synergiques ou antagonistes, mais encore et surtout par le système nerveux végétatif.

Chaque glande reçoit des filets nerveux partant de centres bien définis. Ces centres sont hypothalamiques pour l'hypophyse, bulbaires ou médullaires pour les autres glandes endocrines. Dans le parenchyme glandulaire lui-même, il existe une innervation intrinsèque, formée de micro-ganglions, parfois réduits à une seule cellule nerveuse.

L'influence du système nerveux sur les glandes à sécrétion interne est mise en évidence par les nombreux reflexes neuro-pigmentaires, opto-sexuels, naso-sexuels, etc.

Un des reflexes les mieux étudiés est celui de la ponte ovulaire chez la Lapine, où la participation du système nerveux est des plus évidentes.

Inversement, il est une banalité que de dire que le système endocrinien influence les centrs nerveux, tant de la vie de relation que de la vie végétative.

La neurocrinie hypophysaire que les remarquables travaux de Roussy et Mosinger et de Colin ont mis en lumière n'est qu'un des nombreux mécanismes par lequel le système glandulaire agit sur les centres nerveux.

Le rôle de l'innervation cholinergique de l'adrénalinosecrétion, dont nous avons déjà parlé, l'effet de certaines hormones sur l'activité des nerfs autonomes, nous ont poussé à explorer le système ACh-CHE et ses relations aves les glandes à sécrétion interne.

Cette étude se heurte d'emblée à une difficulté primordiale, celle des inter-dépendances glandulaires. Il est impossible de créer des manifestations d'insuffisance ou d'hyperfonctionnement d'une glande endocrine, sans entraîner immédiatement la mise en activité des glandes synergiques, qui essayent de pallier à l'insuffisance, et la mise au repos des glandes antagonistes.

C'est pourquoi, in vivo, nous ne pouvons créer que des syndromes mixtes à dominance de telle ou telle glande : nos résultats ne sont qu'impurs dans leur signification.

In vitro, les expériences devraient fournir des résultats univoques. Tel n'est cependant pas le cas. Une hormone qui, in vivo, active la CHE, pourra donner in vitro une inhibition ou, le plus souvent, restera sans effet sur l'enzyme. C'est que, croyons-nous, les effets des sécrétions internes sur les teneurs

acétylcholiniques des organes ou sur leurs activités cholinestérasiques se produisent le plus souvent par le relai nerveux central de la régulation enzymatique.

Il est difficile de schématiser les relations de la CHE avec chacune des glandes à sécrétion interne, car les interrelations glandulaires sont trop étroites pour connaître dans leur pureté absolue l'influence d'une glande sur le système ACh-CHE. Pour ne donner qu'un exemple, dans nos expériences de thyroïdectomie, l'animal, outre son myxœdème, présentait chaque fois une nette atrophie de ses gonades. Cette atrophie, qui fait évidemment partie du syndrome d'insuffisance thyroïdienne, ne vient pas moins interférer dans les effets de l'ablation thyroïdienne sur le taux de la CHE sérique.

Nous essaierons néanmoins de sérier le problème en étudiant chaque cas particulier et surtout en tenant toujours compte des multiples corrélations endocriniennes.

Répartition de la CHE dans les glandes à sécrétion interne.

On ne peut conclure de l'effet des hormones sur la CHE par la richesse en ferment des glandes qui les sécrétent. Tout au plus est-il possible de supposer, devant une pauvreté relative en CHE d'une glande, que l'hormone sécrétée pourrait inhiber l'enzyme. Mais le dosage de la CHE dans les divers tissus glandulaires nous fournit des renseignements intéressants sur l'innervation physiologique de cette glande.

Langemann (1942), dans sa thèse, s'est donné pour tâche de dresser la topographie de la CHE dans les divers organes à sécrétion interne de l'Homme.

Le dosage a été effectué par la méthode d'Ammon et les résultats sont exprimés en mmc de CO^2.

Malgré la diversité d'origine du matériel humain (malades morts d'affections très diverses, différence d'âge et de sexe), chaque organe endocrinien présente un taux plus ou moins caractéristique de la CHE tissulaire.

Langemann groupe les organes étudiés en trois classes, suivant leur pouvoir de scission de l'ACh.

La première classe, la plus riche en CHE, comprend *l'hypophyse postérieure, la médullosurrénale et l'intestin grêle,* tissus qui donnent entre 2.217 et 2.530 mmc CO^2.

La deuxième classe intermédiaire (1.219 mmc CO^2) est formée par le *thymus* seul.

Enfin, la troisième classe, à taux fermentaires relativement bas, comprend la plupart des autres glandes (*Hypophyse antérieure* (554), *Thyroïde* (250), *Pancréas* (250), *Corticosurrénale* (324), *Ovaire* (456), *Testicule* (191), *rete testis* (499).

Il est difficile, par ce tableau, de juger de l'activité des

hormones sur la CHE. En effet, il n'y a aucune correspondance entre celle-ci et le taux fermentaire des glandes.

Par contre, on peut étudier ainsi l'innervation glandulaire.

L'intestin dont on connaît l'énorme innervation cholinergique et la production continuelle d'ACh, est l'organe le plus riche en CHE de tous ceux étudiés. On peut supposer que les autres organes riches en CHE, hypophyse postérieure et médullosurrénale, sont soumises à de fortes influences cholinergiques. Cette hypothèse est confirmée par d'autres recherches.

En particulier, l'action nicotinique de l'ACh s'exerce grâce à une hyperproduction d'adrénaline. La sécrétion adrénalinique par la médullosurrénale est sous la direction cholinergique.

D'autre part, les travaux de Benetato et Munteanu, que nous analyserons plus loin, montrent toute l'importance de l'innervation cholinergique pour la posthypophyse.

Mais ceci ne doit pas exclure la possibilité de direction cholinergique des autres glandes, pauvres en CHE.

2. Hypophyse et Système ACh-CHE

L'hypophyse, glande aux fonctions multiples, reliée intimement aux centres de la vie végétative, doit certainement se trouver en relation avec l'ACh et son ferment destructeur.

1. *La sécrétion hypophysaire est régie par un mécanisme cholinergique.*

Taubenhaus et Soskin (1941) montrent que si on applique diverses drogues directement sur l'hypophyse (par voie pharyngée), on obtient les résultats suivants :

a) L'application directe d'un mélange ACh-prostigmine sur la pituitaire du Rat entraîne la formation d'un corps jaune gravidique, comme le prouvent des frottis de dioestrus prolongé et l'aspect déciduomateux de l'endomètre.

b) L'action est hormonale, car elle se produit encore après section du style de l'hypophyse.

c) Elle est spécifique de l'action cholinergique, car une atropinisation préalable directe de l'hypophyse inhibe cet effet, ainsi que la « pseudo-grossesse » qui, normalement, suit une excitation électrique du cervix utérin.

De toutes ces expériences, les auteurs concluent que la transmission des influx nerveux commandant la sécrétion hypophysaire se fait par voie humorale cholinergique.

Par ailleurs, l'excitation des portions centrales du vague entraîne la sécrétion d'hormones posthypophysaires. Cette manifestation ne se produit plus après section du style hypophysaire (Necheles et Neuwelt, 1938).

D'autres preuves sont apportées par Benetato et Munteanu (1941).

Ces auteurs réussissent à prouver que, lors d'une excitation de l'hypothalamus, il y a libération d'une substance ACh-like.

D'autre part, la stimulation électrique de l'hypothalamus, qui entraîne une sécrétion cholinergique, produit une hypersécrétion posthypophysaire, testée par les principes ocytocique et mélanophorique (Karplus).

Westman a montré que, chez la Lapine, on peut faire éclater les follicules ovariens par excitation faradique de l'hypothalamus. Si on élimine ce centre par novocaïnisation, l'effet n'a pas lieu, pas plus que la rupture folliculaire lors du coït.

Enfin, Benetato et Munteanu notent que l'ACh injectée dans l'hypothalamus entraîne une hypersécrétion hypophysaire, surtout postérieure. L'effet est supprimé par l'atropine.

Toutes ces observations prouvant l'innervation cholinergique de la sécrétion hypophysaire sont corroborées par le fait que

l'ACh, injectée à fortes doses, entraîne une inhibition de la diurèse, tout comme l'extrait posthypophysaire (Pickford). Les animaux privés de l'hypophyse ne présentent pas cet effet. L'auteur en conclut que l'ACh déclenche une libération d'hormone anti-diurétique hypophysaire.

Ces recherches prouvent nettement que la sécrétion hypophysaire est régie par un mécanisme cholinergique.

2. *Hormones hypophysaires et action de l'ACh.*

Si l'ACh provoque la sécrétion d'hormones post-hypophysaires, ces hormones semblent antagonistes des effets périphériques de l'ACh.

Necheles et Neuwelt (1938) constatent qu'à la suite d'injection de pituirine, pitressine, mais non de pitocyne, l'hypotension acétylcholinique ne survient plus chez le Chien. Cette inhibition est constante et ne dépendrait pas de l'anesthésique employé (chloréthone, éther, morphine ou nembutal). Nous avons fait remarquer ailleurs (Herschberg, Geisendorf et Piquet, 1940 b) que les anesthésiques généraux et la Morphine sont de puissants inhibiteurs de la CHE in vivo et, par conséquent, ces recherches devraient être reprises sur des animaux, soit non anesthésiés, soit chloralosés.

D'après les mêmes auteurs, la pitressine (principe hypertenseur post-hypophysaire) inhiberait l'effet de l'excitation du parasympathique sur le cœur et sur les glandes salivaires.

Il s'agit d'un antagonisme spécifique de l'ACh, car la réponse à l'histamine n'est pas supprimée.

3. *Hormones hypophysaires et CHE sérique.*

Si on mélange du sérum de Chien à de la pitressine, il n'y a aucune modification de la scission enzymatique de l'ACh (Necheles et Neuwelt).

Par contre, pour Kwiatkowski (1938), l'extrait hypophysaire postérieur (Pituglandol) est un fort inhibiteur de la CHE in vitro. Il en serait de même in vivo, car l'administration d'hormones post-hypophysaires entraîne chez le Lapin, 15 minutes après injection, une nette baisse de l'activité cholinestérasique du sérum, qui atteint son minimum après 30 minutes et disparaît en deux heures (Pirolli, 1941).

RECHERCHES PERSONNELLES

Nous avons repris expérimentalement toutes ces données.

a) *Expériences in vivo.*

Injectant divers extraits hypophysaires à des Cobayes entiers ou castrés, mâles et femelles, nous avons cherché à constater les variations de la CHE sérique, dosée par la méthode de Hall et Lucas.

Résultats.

Injections d'extraits hypophysaires à des Cobayes entiers (mâles et femelles (1)).

Cob N°	Sexe	Poids en gr.	CHE avant	Traitement	CHE après	Différence	Différence en %
HY 1	f	930	1,97	3×1/2 cc. Praeglandol	2,25	+ 0,28	+ 12 %
HY 2	f	790	1,55	3×1 cc. Praeglandol	1,19	— 0,34	— 23 %
HY 6	m	630	1,61	3×1/2 cc. Praeglandol	1,66	+ 0,05	—
HY 3	f	700	2,45	2×1 cc. Preloban	2,40	— 0,05	—
HY 7	m	740	2,06	2×1 cc. Preloban	1,75	— 0,31	— 15 %
HY 4	f	470	1,58	3×50 u. Prolan	1,56	— 0,02	—
HY 8	m	610	1,21	3×50 u. Prolan	1,14	— 0,07	—
HY 9	m	700	1,84	3×50 u. Prolan	1,88	+ 0,04	—
HY 10	m	570	2,17	3×50 z. Prolan	2,14	— 0,03	—
HY 12	f	670	2,07	2×1 cc. Pituglandol	1,79	— 0,28	— 15 %
HY 13	f	600	1,72	2×1 cc. Pituglandol	1,50	— 0,22	— 15 %
HY 5	f	630	2,43	3×50 u. Pituglandol	1,95	— 0,48	— 20 %

Nous pouvons conclure de cette série expérimentale que :

a) Le Praeglandol Roche stimule à faibles doses l'activité in vivo, alors que de plus fortes doses inhibent la CHE.

b) Le Préloban, autre préparation totale du lobe antérieur, inhibe légèrement l'activité de la CHE sérique du Cobaye in vivo.

c) Le Prolan, extrait urinaire, reste sans influence sur l'enzyme.

d) Un extrait de lobe postérieur de l'hypophyse (Pituglandol) inhibe la CHE sérique du Cobaye, in vivo.

Connaissant par les travaux de ZELLER que les hormones génitales haussent l'activité de la CHE, nous avons supposé que le peu de variations constatées après injection d'hormones anté-hypophysaires, contenant des gonadostimulines, pouvait être dû à une hypersécrétion génitale, compensant plus ou moins la baisse de la CHE par les hormones hypophysaires.

C'est pourquoi nous avons repris la même série expérimentale sur des Cobayes castrés.

(1) Les produits utilisés étaient :

Praeglandol Roche = Extrait de lobe antérieur de l'hypophyse. L'ampoule N° 1 contient 1'5 u. gonadotrope et 45 u. thyréotropes de Cobaye. L'ampoule N° II contient 5 u. gonadotropes de Rat et 150 u. thyréotropes de Cobaye.

Preloban = Extrait de lobe antérieur d'hypophyse contenant par 1 cc, 25 unités de maturation.

Prolan = Extrait d'hormones hypophysaires à partir de l'urine. Uniquement hormones gonadotropes. 1 cc = 100 unités Rat.

Pituglandol Roche = Extrait de lobe postérieur de l'hypophyse.

Effets des injections d'hypophyse antérieure à des Cobayes castrés.

Cob.	Sexe	Castrés depuis	CHE avant	Traitement	CHE après	Différence en %
0 5	f	6 mois	2,34	3×1/2 cc. Praeglandol I	2,06	— 14 %
0 1	f	7 mois	1,65	id.	1,40	— 16 %
0 3	f	7 mois	3,45	3×1/2 cc. Praeglandol II	3,33	— 4 %
0 6	f	6 mois	2,68	id.	2,38	— 12 %
III	m	10 mois	2,00	3 1/2 cc. Praeglandol I	1,53	— 24 %
VII	m	10 mois	1,68	id.	1,50	— 12 %
XI	m	7 mois	1,80	id.	1,48	— 17 %
XIII	m	7 mois	1,70	id.	1,30	— 24 %

Notre hypothèse s'est donc vérifiée : chez les animaux castrés, le taux de la CHE baisse après injection des hormones anté-hypophysaires.

b) *Expériences in vitro.*

Nous avons mélangé du sérum de Cheval avec diverses concentrations d'extraits hypophysaires, et nous avons étudié, par la méthode de Hall et Lucas, les modifications d'action de la CHE.

Résultats :

1. *Lobe postérieur de l'hypophyse.*

Nos recherches confirment celles de Kwiatkowski (1938). Les extraits post-hyphphysaires (Pituglandol, Glandobuline) entraînent à fortes concentrations une inhibition de la CHE. Cette inhibition est, comme in vivo, de l'ordre de 20 à 25 %, pour des concentrations variant entre 1/100e et 1/1.000e d'unité par cc de sérum.

Résultats expérimentaux :

Mélange (30 min. à 37°)			Activité de la CHE	Différence
0,5 cc. sérum de cheval (témoin)			4,40	—
0,5 cc. —	+ 0,01	u.i. Pitocyne	4,08	— 9 %
0,5 cc. —	+ 0,001	—	4,15	— 7 %
0,5 cc. —	+ 0,0001	—	4,20	— 5 %
0,5 cc. —	+ 0,02	u.i. Pitressine	3,78	— 15 %
0,5 cc. —	+ 0,002	—	4,30	— 2,5 %
0,5 cc. —	+ 0,0002	—	4,35	0
0,5 cc. —	+ 0,01	u.i. Pituglandol	3,32	— 25 %
0,5 cc. —	+ 0,001	—	3,52	— 20,5 %
0,5 cc. —	+ 0,0001	—	3,85	— 13 %
0,5 cc. —	+ 0,00001	—	4,23	— 5 %

En conclusion, les hormones post-hypophysaires produisent des inhibitions faibles, mais constantes, de la CHE du sérum de Cheval. L'extrait total (Pituglandol, Roche) est beaucoup plus actif que les hormones purifiées.

2. *Lobe antérieur de l'hypophyse.*

a) *extrait total du lobe antérieur.*

0,002 unités /cc à 0,00002 u/cc ne modifient pas l'activité de la CHE sérique du Cheval in vitro. Par contre, de fortes concentrations de cet extrait (nous avons utilisé le Préloban) activent légèrement la CHE de 10 à 15 % environ (1,5 u.i./cc).

b) *hormones gonadotropes hypophysaires.*

Nous avons employé le Prolan, qui est un extrait urinaire. Des concentrations variant de 0,005 à 0,25 unités internationales/cc de sérum donnent des inhibitions variant de 15 à 5 % environ de la CHE.

En résumé, l'on peut dire que les hormones gonadotropes inhibent l'activité de la CHE sérique in vitro, alors que les extraits totaux du lobe antérieur de l'hypophyse contiennent des hormones qui neutralisent l'inhibition produite par les substances gonadotropes, ce qui rend ces extraits totaux inactifs sur la CHE.

CONCLUSIONS

1. La sécrétion hypophysaire est régie par un mécanisme cholinergique.

2. Les hormones hypophysaires gonadotropes inhibent in vivo et in vitro, l'activité de la CHE sérique.

3. Il en est de même pour les hormones du lobe postérieur.

4. Par contre, l'extrait total de l'hypophyse antérieure reste sans effet sur la CHE sérique, car il est probablement le siège d'action hormonales antagonistes envers le ferment.

5. On peut mettre en évidence ces actions hormonales en castrant les animaux en expérience, car ainsi l'on supprime l'influence régulatrice des glandes génitales sur l'hypophyse.

3. Glandes surrénales et Cholinestérase

Nous avons vu que la médullosurrénale est extrêmement riche en CHE, richesse qui correspond à sa très importante innervation cholinergique (action nicotinique de l'ACh). (Langemann, Peruzzi).

Antopol et Glick (1940), étudiant la distribution de la CHE dans la surrénale par une méthode histochimique, confirment ce fait : il y a très peu d'activité cholinestérasique dans la corticale. Les diverses cellules de cette zone sont peu actives sur l'ACh, sans différence notable entre les 3 types cellulaires. Par contre, la médullosurrénale est riche en CHE, également d'une façon uniforme. Différentes espèces (Porc, Bœuf, Lapin) présentent la même distribution de la CHE. Langemann l'a également montré pour l'homme.

Quelle est l'action des sécrétions surrénaliennes sur la CHE sérique ?

A. *Adrénaline.*

Les injections à des Lapins de 1 cc d'une solution d'Adrénaline au 1/1000e, entraîneraient, d'après Pirolli (1941), une baisse de la CHE sérique, débutant après 15 minutes, atteignant son minimum après 30 minutes et disparaissant après 2 heures.

L'auteur interprète cette baisse comme une action de défense de l'organisme contre cette hormone hypertensive.

Chez l'Homme, Rubino (1940) observe l'effet inverse : l'Adrénaline et ses succédanés, tels le Sympatol, provoquent une hausse de la CHE sérique.

Les divergences de ces données in vivo s'expliquent aisément si l'on se souvient que toute injection d'Adrénaline entraîne une hyperformation compensatrice d'ACh (Giordano et Rigoletti, 1939), alors que l'injection d'ACh produit son effet nicotinique par hypersécrétion d'Adrénaline.

In vitro, Corteggiani, Gautrelet, Halpern et Serfaty (1936), mettent en contact de l'Adrénaline avec du sérum de Cheval pendant 10 minutes, constatent qu'une concentration d'Adrénaline à 1/40.000 inhibe la CHE sérique de 25 %.

Il nous paraît assez improbable que l'Adrénaline puisse modifier in vivo ou in vitro l'activité de la CHE, car l'hormone médullosurrénalienne est très rapidement détruite par son oxydase et, par conséquent, ne peut se fixer durablement sur la CHE.

B. *Corticostérone.*

Expériences in vitro.

Nous avons mis en contact une préparation hydrosoluble

de corticostérone (solvant indifférent envers la CHE) avec du sérum de Cheval à l'étuve à 37°C pendant une demi-heure. Puis nous avons mesuré les différences d'activité de la CHE sérique, avant et après le contact.

Résultats :

1. Les faibles concentrations de corticostérone (jusqu'à 0,00125 mgr/cc) ne produisent aucun effet sur l'activité de la CHE sérique du Cheval.

2. De fortes doses (de 0,05 à 0,10 mgr/cc) inhibent la CHE de 15 à 20 % environ.

3. Une dose de 0,5 mgr/cc donne une inhibition de 30 % environ.

Pratiquement, on peut donc dire que la corticostérone n'exerce aucune influence sur la CHE in vitro.

Expériences in vivo.

1. Une surcharge en hormones corticosurrénales de Cobayes entiers ne produit aucune variation de leur CHE sérique.

2. La surrénalectomie semble diminuer fortement l'activité de la CHE sérique du Cobaye, mais le nombre d'animaux que nous avons testé est insuffisant pour formuler des conclusions définitives.

La destruction des surrénales chez l'Homme, entraîne une forte baisse (de plus de 50 %) de la CHE du sang (Drouet, Verain et Franquin, 1942).

4. Cholinestérase sérique et Glande thyroïde

Les relations entre la thyroïde et le système nerveux végétatif sont très étroites. Les hormones thyroïdiennes exercent une grande influence sur le tonus vago-sympathique.

Inversement, le fonctionnement thyroïdien dépend en grande partie du système nerveux végétatif. En effet, si l'on injecte des substances parasympathomimétiques (carbaminoylcholine, génésérine, ACh + génésérine), on constate chez le Cobaye ou le Lapin des images histologiques de fort hyperfonctionnement thyroïdien (Carrière, Morel et Gineste, 1939). Il semble donc que l'activité thyroïdienne soit sous la dépendance du système nerveux végétatif cholinergique, c'est-à-dire que la sécrétion thyroïdienne se déclenche sous l'influence de l'excitation vagale. Cet élément nerveux ne doit toutefois pas jouer un très grand rôle puisque le tissu thyroïdien est relativement pauvre en CHE. Il est 10 fois moins riche en cet enzyme que l'hypophyse postérieure ou la médullosurrénale, et 5 fois moins riche que le thymus (Langemann, 1942). Or, nous savons que l'on peut mettre en parallèle la teneur en CHE d'un tissu et l'importance de son innervation cholinergique. Remarquons encore que l'extirpation de la thyroïde ne modifie pas la teneur des organes en ACh. (Plattner et Tsudzimura, 1935).

Les relations entre la thyroïde et la CHE sont peu connues.

Seuls, deux auteurs ont fait des recherches expérimentales :

Vahlquist (1935), constate in vitro que la CHE du sérum humain est inhibée de 25 % en présence de thyroxine à 0,025 %.

Ammon (1943), faisant agir 0,15 mgr de thyroxine sur 0,01 cc de sérum (soit une concentration de 1,5 %) obtient une inhibition de la CHE de 30 %. Mais une concentration de 0,5 % est déjà totalement inactive. Il ne s'agirait donc pas, pour cet auteur, d'une influence directe de l'hormone sur l'enzyme.

In vivo, injectant 3 et 4 mgr de thyroxine à 2 Lapins pendant 14 et 18 jours, il trouve, par contre, une nette activation de la CHE du sérum et du dang total (entre + 100 et + 150 %).

Il existe donc une certaine imprécision sur les relations entre l'enzyme et la glande thyroïde ainsi que ses sécrétions. C'est pourquoi nous avons entrepris la série expérimentale suivante :

MÉTHODES

L'étude a été faite in vivo et in vitro.

In vitro, nous avons mis en contact du sérum d'espèces diverses avec différentes concentrations de thyroxine à l'étuve à 37° pendant 30 minutes.

Les dilutions étaient calculées au moment du contact à l'étuve, c'est-à-dire avant la dilution du mélange nécessitée par le dosage. Si l'on compare donc nos concentrations avec celles d'Ammon, il y a lieu de les diviser par 20.

Le dosage a été effectué par la méthode de titrimétrique de Hall et Lucas, dont les résultats sont exprimés en cc de NaOH 0,01 N.

In vivo, nous avons étudié les variations d'activité de la CHE sérique du Cobaye sous l'influence de la thyroïdectomie totale ou des injections de thyroxine ou d'extraits thyroïdiens totaux. Le sérum fut prélevé par ponctions cardiaques successives. Dosages également par la méthode de Hall et Lucas.

Résultats :

1. *Etudes in vitro.*

Nous avons utilisé la Thyroxine Roche injectable, qui est une solution de thyroxine cristallisée synthétique en milieu alcalin. Nous avons, avant le contact avec le sérum, amené le pH de cette solution à 8,5.

Nous exprimons nos résultats sous forme de tableau synoptique.

Effet de la thyroxine sur le sérum humain, de Cheval et de Cobaye in vitro

Sérum	Activité avant trait.	Activité CHE après contact avec Thyroxine				
		1/2.000	1/5.000	1/10.000	1/25.000	1/100
Cobaye.....	1,84	1,32 (—29 %)	—	1,69 (—10 %)	—	1,88 (0)
Cheval.....	3,30	1,89 (—43 %)	—	2,82 (—15 %)	3,25 (0)	3,30 (0)
Homme.....	3,70	—	3,70 (0)	3,70 (0)	—	—

Les chiffres expriment les cc de NaOH 0.01 N utilisés pour le dosage. Entre parenthèses, pourcentage de la modification d'activité de la CHE.

Comme on peut le voir sur ce tableau, *la thyroxine inhibe la scission enzymatique de l'ACh par le sérum de Cheval* (—43 % *pour* 1/2.000) *par celui de Cobaye* (—29 % *pour* 1/2.000) *mais ne modifie pas l'activité de la CHE du sérum humain.*

Quelques expériences pratiquées avec l'hémolymphe d'Escargot, dont on connaît le fort pouvoir cholinestérasique, semblent montrer une activation de l'enzyme par la thyroxine, mais ces expériences ne furent pas assez nombreuses pour être absolument concluantes.

2. *Etudes in vivo.*

I. *Expériences de thyroïdectomie.*

Nous avons soumis une série de Cobayes à l'ablation totale de la glande thyroïde. Les Cobayes furent ponctionnés avant

l'intervention et pendant une période de 4 à 6 mois après celle-ci. Nous avons ainsi pu étudier l'évolution du la CHE sérique de ces animaux.

L'effet de la thyroïdectomie fut suivi par la mesure du poids des animaux et par leur cosommation d'oxygène par minute et kg. Pour éviter l'interférence des effets de l'ablation des parathyroïdes, qui est obligatoire chez ces animaux, nous avons traité une série expérimentale par les extraits parathyroïdiens, mais il n'y eut pas de différence avec les séries non traitées.

Nos résultats sont exprimés dans le tableau suivant :

Influence de la thyroïdectomie sur la CHE sérique du Cobaye

N°	Sexe	Avant opération			3 mois après l'intervention			Différence		
		Pds en gr.	Consom. 0^2/m kg. cc.	CHE sérique	Poids	Consom. 0^2/min. kg cc	CHE sérique	Poids	Consom. 0^2/m./ kg	CHE sétique
1	m.	410	17,7	2,08	630	8,2	2,06	+ 53 %	— 55 %	0
4	m.	540	14,2	3,22	800	5,5	3,15	+ 50 %	— 62 %	— 2 %
5	m.	540	13,6	2,71	630	5,5	2,17	+ 16 %	— 65 %	— 20 %
6	f.	440	10,2	2,95	710	3,9	2,67	+ 61 %	— 62 %	— 10 %
8	f.	490	10.4	2,49	810	3,0	2,44	+ 65 %	— 67 %	— 2 %
9	f.	430	12,5	3,41	640	4,5	3,11	+ 48 %	— 64 %	— 10 %
10	f.	500	13,4	2,39	820	6,2	2,35	+ 64 %	— 54 %	— 1 %
11	m.	520	9,0	2,27	730	5,2	2,22	+ 60 %	— 43 %	— 10
12	m.	590		2,55	700		2,14	+ 20 %		— 17 %
13	m.	400	5,0	2,10	550	2,5	2,06	+ 37,5 %	— 50 %	— 1 %
Moyennes					+ 47,5 %	— 58 %	— 6,4 %			

Le tableau nous montre d'abord le fait essentiel que la *thyroïdectomie totale n'entraîne pas chez le Cobaye de variations notables de la CHE sérique*. En effet, 3 mois après l'ablation de la glande, la CHE sérique n'a baissé en moyenne que de 6,4 %, variation que nous considérons comme négligeable, puisqu'elle ne dépasse pas le cadre de l'erreur expérimentale.

Il ne semble pas exister de différence de comportement entre les mâles et les femelles.

Il n'y a *pas de rapport entre l'augmentation de poids de nos animaux, leur baisse de la consommation d'oxygène (rapportée au poids et à la minute) et le taux de la CHE sérique.*

Notons enfin que si l'on dose la CHE régulièrement tous les 10 à 15 jours après thyroïdectomie, on constate une série de variations irrégulières (hausses et baisses légères) qui aboutissent à la stabilisation plus ou moins rapide au niveau initial, en moyenne après 6 semaines.

Exemple : Le Cobaye mâle No. 11 présente les variations suivantes : Avant thyroïdectomie : 2,27 ; 10 jours après : 2,95 ; 30 jours après : 2,09 ; 6 semaines après, 8 semaines et 12 semaines après : respectivement, 2,41, 2,10 et 2,22. Donc, pratiquement stabilisation après la 6e semaine. Comme on peut le voir, les variations sont de faible amplitude.

L'explication doit être cherchée dans le déséquilibre endocrinien provoqué par la thyroïdectomie, en particulier à l'influence des glandes génitales, dont ZELLER et ses Collaborateurs ont montré l'importance dans la fonction cholinestérasique.

II. *Expérience de surcharge thyroïdienne.*

1. *Injections de thyroxine à des Cobayes normaux.*

Nous avons injecté quotidiennement une ampoule de thyroxine Roche à des Cobayes. Cette dose, que nous pouvons considérer comme très forte, a entraîné dans le bref espace de temps du traitement hormonal une notable chute de poids (de 15 à 20 % en moyenne) et un accroissement de la consommation d'oxygène (de 20 à 25 % en moyenne), faits qui signent l'effet toxique du traitement appliqué.

Les variations de la CHE sérique sont exprimées en tableaux synoptiques et l'on peut diviser le lot de Cobayes étudié en deux groupes, suivant leur réaction au traitement. *Voir tableau VIII.*

TABLEAU VIII

Effets des injections de Thyroxine à des Cobayes normaux

Cob. No.	Sexe	CHE avant traitem.	Traitement	CHE après traitement			
				5 jours	15 jours	30 jours	45 jours
			GROUPE I				
20	f.	2,87	5×1 mgr. Th.	2,15	1,82	2,84	
21	f.	2,40	id.	1,92	1,62	2,15	mort
22	m.	2,33	id.	2,12	1,48	1,74	2,60
23	m.	2,46	id.	2,22	1,50	2,15	2,50
24	m.	2,60	id.	1,78	1,93	2,62	—
25	m.	2,40	6×1 mgr. Th.	1,80	1,98	mort	—
26	m.	2,12	id.	1,80	2,07	—	—
			GROUPE II				
30	f.	2,65	5×1 mgr. Th.	2,71	2,56	2,81	—
31	m.	1,65	id.	1,90	1,72	1,83	—
32	m.	1,78	id.	2,48	1,41	1,80	—
33	m.	3,22	6×1 mgr. Th.	3,25	—	—	—
34	m.	2,36	id.	2,34	—	—	—
35	m.	2,58	id.	2,22	2,80	—	—

Si l'on résume les données de ce tableau VIII, on peut constater que le groupe I est composé de Cobayes chez qui l'injection de Thyroxine entraîne une baisse assez marquée de la fonction cholinestérasique du sérum ; après l'arrêt des injections, la CHE sérique continue en général de baisser pendant une quinzaine de jours pour remonter ensuite progressivement et retrouver son taux initial en 30 à 45 jours.

Il faut bien préciser que le poids et la consommation d'oxygène de ces animaux reviennent à la normale avant le taux enzymatique.

Le 2e groupe comprend une série de Cobayes chez qui les mêmes doses de Thyroxine que dans le 1er groupe ne modifient pas apparemment le taux de la CHE sérique.

Guidés par des constations faites sur les relations entre l'estérase banale et la Thyroxine (Bauer et Collaborateurs), et afin de savoir si la CHE sérique de ce groupe de Cobayes est totalement réfractaire à l'hormone thyroïdienne ou si la réaction cholinestérasique se fait précocement, nous avons repris les Cobayes du groupe II un mois après le premier traitement (alors que leur poids et leur consommation d'oxygène étaient revenues à leur point de départ) et nous leur avons à nouveau injecté de la Thyroxine. Mais, au lieu d'attendre la fin de la série des injections pour prélever le sérum, nous avons intercalé un dosage intermédiaire de la CHE sérique après la deuxième injection.

Le tableau IX donne les résultats trouvés :

TABLEAU IX

Cob. N°	Sexe	CHE avant trait.	Traitement	CHE après	Traitement	CHE après 6e j.	Traitem. total 10e j.
33	m.	3,22	2×1 mgr. Th.	2,48	6×1 mgr.	3,25	—
34	m.	2,36	id.	1,78	id.	2,34	—
35	m.	2,58	id.	1,97	id.	2,22	2,80
36	m.	2,90	id.	2,50	id.	2,95	—
37	m.	1,85	id.	1,45	id.	2,00	—

Comme le prouve notre série, il s'agit donc de *Cobayes présentant une réaction précoce de la CHE sérique qui se fait au cours même du traitement thyroxinien.*

Nous croyons trouver dans ce phénomène la résultante d'une réaction endocrinienne complexe, que nous essayerons d'élucider plus loin.

2. *Injections de Thyroxine aux Cobayes thyroïdectomisés.*

Nous avons vu que l'ablation de la thyroïde ne modifie pas notablement l'activité de la CHE sérique du Cobaye.

Les injections de Thyroxine ou d'extraits thyroïdiens totaux chez ces Cobayes thyroïdectomisés entraînent une réaction analogue à celle des Cobayes entiers, comme le montre le tableau X.

TABLEAU X

Injections de Thyroxine ou d'extraits thyroïdiens aux Cobayes thyréoprives. (Intervention datant de plus de 3 mois)

Groupe I. Petites doses

Cob. N°	Sexe	CHE après intervent.	Traitement	CHE après 6 jours	Traitement	
					30 jours	45 jours
1	m.	2,06	5×1/3 mgr. Th.	1,64	—	—
8	f.	2,44	id.	2,25	—	—
9	f.	3,11	id.	2,60	—	—

Groupe II. Fortes doses						
13	m.	2,06	5×1 mgr. Th.	1,40	1,96	1,90
11	m.	2,28	5×1 mgr. Th.	1,54	2,28	—
14	m.	3,12	id.	2,45	2,79	3,08
Groupe III. Extraits thyroidiens totaux						
4	m.	2,88	5×1 gr. extr. thyroïd.	2,22	2,10	2,50
5	m.	1,90	id.	1,35	2,53	—
10	f.	2,33	id.	1,80	mort	—

Donc, comme chez les Cobayes entiers, la CHE sérique des Cobayes thyréoprives subit une inactivation sous l'effet des injections de Thyroxine, inhibition variable en intensité suivant les animaux, mais d'assez longue durée. La réaction de l'organisme semble retardée.

Les extraits thyroïdiens totaux (nous avons utilisé un extrait dont 1 cc correspondait à 1 gr de glande fraîche) entraînent les mêmes effets que l'hormone synthétique.

Pour explorer plus avant les raisons des variations enzymatiques sous l'influence de la thyroxine, nous avons injecté cette hormone à des Cobayes castrés mâles ou femelles, afin de savoir si la remontée du taux fermentaire dépendait des glandes génitales.

3. *Injections de Thyroxine à des Cobayes castrés.*

Cob. N°	Sexe	CHE avant traitem.	Traitement	CHE intermédiaire	Traitement	CHE après traitement total
51	f.	1,33	2×1 mgr. Th.	1,38	5×1 mgr. Th.	1,80
52	f.	2,45	—	2,43	—	2,08
53	f.	3,53	—	3,45	—	2,51
54	f.	2,19	—	2,16	—	2,00
61	m.	1,92	—	2,02	—	
62	m.	2,00	—	1,77	—	1,75
63	m.	2,47	—	2,48	—	1,88
64	m.	2,15	—	2,10	—	1,94
65	m.	2,35	—	2,53	—	1,52

Cette série montre deux faits essentiels :

— la chute initiale du taux de la CHE que nous avons constaté chez le Cobaye normal après la deuxième injection manque chez les Cobayes mâles ou femelles castrés.

— ces Cobayes semblent plus résistants à l'action de la Thyroxine, puisque l'inhibition de la CHE sérique est tardive, ne se fait qu'après une forte dose d'hormone et, dans certains cas, ne se produit pas du tout.

Nous en concluerons que *l'effet des injections de Thyroxine chez le Cobaye s'exerce sur la CHE sérique en grande partie indirectement par l'intermédiaire des glandes génitales.*

*
**

Si l'on résume nos résultats expérimentaux, nous pouvons dire que :

1. *In vitro,* le Thyroxine inhibe légèrement la CHE sérique du Cobaye et du Cheval. Elle n'a pas d'influence sur l'enzyme du sérum humain.

2. *In vivo,*

a) la thyroïdectomie ne modifie pas notablement l'activité de la CHE sérique du Cobaye ;

b) les injections de Thyroxine ou d'extraits thyroïdiens totaux chez des Cobayes normaux ou thyréoprives entraînent une inhibition de la CHE sérique modérée (20 à 30 % en moyenne). Cette chute du taux enzymatique est plus ou moins rapidement compensée soit au cours même du traitement, soit dans le mois qui suit l'arrêt de celui-ci ;

c) il est très probable que l'action de la Thyroxine sur la CHE sérique du Cobaye n'est pas directe, mais s'exerce en partie du moins par l'intermédiaire des glandes génitales, comme le prouvent nos expériences sur Cobayes castrés.

Discussion des résultats

1. *Expériences in vitro.*

Les réactions de la CHE mise en contact avec diverses dilutions de Thyroxine ne peuvent être que des effets directs de l'hormone sur l'enzyme. L'inhibition obtenue par nous est d'ailleurs en concordance avec les travaux de Vahlquist et d'Ammon. Elle est cependant plus forte. De plus, nous avons montré que seules les CHE de Cobaye et de Cheval sont sensibles à la Thyroxine, alors que le ferment du sérum humain ne réagit pas à l'hormone.

S'agirait-il d'un effet de l'iode contenu dans l'hormone ? Nous avons signalé ailleurs que l'iode est un léger inhibiteur de la CHE in vitro. Mais l'inhibition obtenue avec la Thyroxine semble être légèrement plus prononcée. On peut admettre que l'influence de l'iode ne soit pas négligeable.

2. *Expériences in vivo.*

Nous ne croyons pas à l'intervention de la glande thyroïde dans la régulation du taux de la CHE sérique, car l'ablation du corps thyroïde n'en modifie pas la valeur. Les injections de Thyroxine, qui inhibent la fonction enzymatique doivent agir par un autre mécanisme que l'action directe sur le ferment.

D'après les travaux de Zeller, nous savons que les glandes génitales, augmentent la scission enzymatique de l'ACh. Il est possible que les injections de Thyroxine inhibent partiellement la sécrétion des gonades et que, secondairement à cette insuffisance hormonale, le taux de la CHE baisse. D'ailleurs, le retour plus ou moins rapide de ce taux vers la normale parle en faveur d'une réaction endocrinienne. En particulier, le comportement différent de la CHE des animaux castrés vis-à-vis de la Thyroxine est très significatif dans ce sens.

5. Système ACh-CHE et Parathyroïdes

Vu l'importance du système ACh-CHE dans la transmission des influx nerveux au niveau des synapses nerveuses et neuro-musculaires, certains auteurs se sont demandé si les convulsions et l'état tétanique provoqués par l'insuffisance des glandes parathyroïdes ne pouvaient trouver leur pathogénie immédiate dans une modification cholinestérasique.

Spadolini (1938) constate que l'injection intraveineuse d'ACh chez des Chiens normaux ésérinés produit un syndrome analogue à celui de l'insuffisance parathyroïdienne. Chez des Chiens ayant préalablement subi une ablation totale des glandes parathyroïdes, la sensibilité à l'ACh est extrême : déjà de faibles doses d'ésérine seules peuvent entraîner un état tétaniforme et si l'on injecte à ces animaux en même temps de très faibles quantités d'ACh, on peut constater des convulsions graves et la mort.

L'hypocalcémie que l'on provoque chez les parathyroïdectomisés est un des éléments importants de ces manifestations : nous savons, en effet, que le Ca est un activateur physiologique de la CHE. Cette diminution du taux de la calcémie semble favoriser nettement l'action de l'ACh. D'ailleurs, dans quelques cas, Spadolini put montrer, au cours de ces convulsions graves chez les Chiens privés de parathyroïdes, la présence d'ACh libre dans le sang circulant. On doit conclure de ce travail que les convulsions parathyréoprives sont dues à une plus grande sensibilisation de l'organisme de ces animaux à l'acétylcholine et cela d'autant plus si on augmente encore cette sensibilité par le blocage préalable de la CHE par l'ésérine.

Mais si la participation de l'ACh semble indiscutable dans ces convulsions, il s'agirait surtout d'un excès de production d'ACh. En effet, nos recherches montrent que l'ablation des parathyroïdes chez le Cobaye ne modifie pas le taux de la CHE sérique.

Nous résumons brièvement nos résultats sous forme de tableau :

Effet de la parathyroïdectomie sur la CHE sérique.

Cob. N°	Sexe	Intervention datant de :	CHE avant intervention	CHE après parathyroïdectomie	Différence en %
101	m.	90 jours	2,08	2,06	0
104	m.	90 jours	3,22	3,15	— 2 %
105	m.	90 jours	2,71	2,17	— 20 %
106	f.	80 jours	2,95	2,65	— 10 %
108	f.	80 jours	2,49	2,44	— 1 %
110	f.	75 jours	2,39	2,35	— 1 %
111	m.	60 jours	2,27	2,22	— 2 %
113	m.	60 jours	2,10	2,06	— 1 %

On peut constater dans ce tableau que les modifications que subit la CHE sérique sous l'influence de l'ablation des parathyroïdes sont négligeables et entrent dans le cadre des erreurs expérimentales.

D'ailleurs, l'injection de parathormone à ces Cobayes privés de parathyroïdes ne modifie pas non plus le taux de la CHE sérique, comme on peut le voir sur le tableau XI. Les Cobayes furent ponctionés avant et après une série d'injections de parathormone et on a dosé les changements éventuels de la CHE de leur sérum par la méthode de Hall et Lucas.

Injections d'hormone parathyroïdienne à des Cobayes parathyréoprives.

TABLEAU XI

Cob. N°	Sexe	Taux CHE avant traitement	Traitement	CHE après traitement	Différence en %
104	m.	3,15	5×7 u. Collip	2,88	— 9 %
105	m.	2,17	5×7 u. Collip	1,90	— 12 %
110	f.	2,35	5×7 u. Collip	2,05	— 11 %

Donc, les injections de très fortes doses d'hormone parathyroïdienne ont entraîné une chute d'activité de la CHE sérique de 10 % en moyenne, chute dont l'ampleur ne peut retentir sur le fonctionnement physiologique.

(Nous avons utilisé la préparation de « *Parathyroïde Gedeon Richter* », en ampoules injectables, dont 1 cc contient 100 unités nouvelles, soit 20 unités originales *Collip*. Chaque Cobaye reçut pendant 5 jours un tiers d'ampoule par voie sous-cutanée quotidiennement).

Chez des Souris normales, Pirolli (1942 a), administrant 3 unités Collip de parathormone ne trouve pas de modification d'activité de la CHE du sang ou des muscles. Il conclut de ses recherches que les altérations fonctionnelles des muscles et du système neuro-végétatif au cours de l'insuffisance parathyroïdienne ne sont pas dues à une modification de l'activité de la CHE.

C'es aux mêmes conclusions que nous devons arriver, d'autant plus que cliniquement, il n'y a pas d'indications d'une modification d'activité de la CHE chez les enfants tétaniques.

De cette brève étude, nous devons conclure que :

1. La parathyroïdectomie entraîne une plus grande sensibilisation de l'animal à l'acétylcholine, mais cette sensibilisation ne s'effectue pas par l'altération de la fonction cholinestérasique puisque :

2. La parathyroïdectomie ne modifie pas notablement la fonction de la CHE sérique du Cobaye et que, d'autre part,

3. les injections de parathormone à des Cobayes normaux ne changent rien à la destruction de l'ACh par leur sérum.

Il en résulte donc que les manifestations cliniques de l'insuffisance parathyroïdienne peuvent trouver une explication pathogénique dans une plus grande sensibilisation à l'ACh, mais sans que la CHE intervienne dans ce mécanisme de sensibilisation.

Nous avons achevé cette série expérimentale en étudiant in vitro l'effet de la parathormone sur la CHE du sérum de Cheval.

Nous avons mis en contact diverses concentrations d'hormone parathyroïdienne axec du sérum de Cheval à 37° C pendant 30 minutes, puis dosé l'activité de la CHE par la méthode de Hall et Lucas.

Résultats :

CHE avant le contact (témoin)	Dose de parathormone par cc. de sérum	CHE après contact	Différence en %
3,45	0,1 unités Collip	3,42	0
3,45	1,0 —	3,46	0
3,45	10,0 —	3,40	0

La CHE sérique du Cheval reste donc sans modifications après un contact avec de fortes concentrations de parathormone.

6. Secrétions pancréatiques et Système ACh-CHE

Nous envisagerons dans ce chapitre successivement :

1. Influence des hormones pancréatiques sur la production et l'action de l'ACh.

2. Effets de l'insuline sur la CHE.

3. Effets de la vagotonine sur la CHE.

1. *Insuline et action acétylcholinique.*

Dès 1935, Broun et Beaune ont noté que l'administration d'insuline renforce, chez le chien, les effets hypotenseurs et bradycardisants de l'ACh, tant en intensité qu'en durée. Pour cette action des doses fortes d'insuline sont nécessaires (40 unités par animal, injectées 20 minutes avant l'ACh). Les auteurs ne donnent pas d'interprétation de cette synergie.

D'autre part, Bender et Siegal (1939), créant des hypoglycémies insuliniques chez les Singes, observent qu'au cours de ces états il se produit une forte décharge de substances cholinergiques et adrénergiques, ces dernières étant en forte prédominance.

2. *Effets de l'insuline sur la CHE.*

a) *Etudes in vitro.*

Nous avons étudié par notre technique habituelle, l'influence de l'insuline sur l'activité de la CHE sérique du Cheval. A faibles doses, l'insuline reste sans action sur ce ferment. Cependant, avec 1 unité /cc, on assiste à une inhibition de la CHE d'environ 20 à 25 %. Cette inhibition n'augmente pas si l'on accroit la concentration d'insuline (5 unités /cc).

b) *Etudes in vivo.*

Chez l'animal (Chien), des injections de 0,1 à 10 unité /kg d'insuline ne modifient pas la CHE sérique ou tendent à l'activer très légèrement (Bovet et Santenoise, 1941). Chez le Lapin, Cortell, Feldman et Gellhorn (1941) ne constatent pas de variations de la CHE sérique pendant le coma hypoglycémique (5 unités d'insuline par kg).

Chez l'Homme, Randall et Jellinek (1939) ont étudié les modifications de la CHE sérique sur des malades schizophrènes soumis au choc insulinique. Ils ont pu observer les faits suivants :

Chez les Schizophrènes, la moyenne (sur 22 cas) des taux de la CHE sérique est un peu plus basse que celle de sujets normaux (témoins). Après traitement insulinique, l'activité de

la CHE sérique augmente nettement, que le traitement ait été suivi d'amélioration clinique ou non. Cette augmentation est d'environ 20 %.

Le taux de la CHE sérique des Schizophrènes présente de fortes variations individuelles qui diminuent lorsque le malade a été « amélioré » par la thérapeutique insulinique. Ainsi, un traitement insulinique réussi stabilise le taux de la CHE sérique, alors que les malades non améliorés conservent une grave instabilité de l'activité fermentaire. Dans ces deux groupes de malades, le taux de la CHE sérique revient à son niveau initial au cours de la deuxième semaine qui suit le traitement.

D'autre part, des injections prolongées d'insuline entraînent une hausse notable de la CHE du sérum (Randall, 1940). Par contre, si l'on compense l'hypoglycémie insulinique par une couverture suffisante de glucose, la CHE sérique ne subit plus que de faibles variations (Randall. 1939).

Il semble donc que l'activité de la CHE dépend moins de l'insuline elle-même que de l'hypoglycémie que celle-ci produit. Ce fait concorde d'ailleurs avec nos constatations in vitro, montrant que l'insuline n'affecte en rien la CHE sérique.

Quant à la hausse de la CHE sérique lors du choc insulinique et les fluctuations du taux de ce ferment que l'on constate dans ces cas, nous pouvons les attribuer à des effets de compensation interglandulaire, où doivent entrer en jeu en premier lieu la surrénale. puis les glandes génitales.

3. *Système ACh-CHE et Vagotonine.*

La Vagotonine semble grouper un certain nombre de substances actives, extraites du pancréas désinsulinisé.

Elle augmente la sensibilité des Chiens aux effets hypotenseurs de l'ACh (Santenoise, Merklen et Vidacovitch, 1933), ainsi qu'aux effets bradycardisants de cette hormone (Merklen, Franck et Grandpierre, 1935). Il semble que cette action synergique soit due au pouvoir inhibiteur que la vagotonine exerce sur la CHE (Bovet et Santenoise, 1941).

Chez le Chien dépancréaté, le taux de la CHE semble augmenter sans être influencé par l'insuline. Un apport de Vagotonine ramène ce taux à la normale (Santenoise et Bovet, 1941).

Le système ACh-CHE et les glandes sexuelles

Le système cholinergique joue un rôle primordial dans le mécanisme d'action des hormones génitales, et en particulier des hormones génitales femelles.

Il joue un grand rôle également dans la motricité des organes sexuels primaires, tels l'utérus, les vésicules séminales etc.

Cockrill, Miller et Kurzrock ont montré en 1935 que le liquide séminal humain contient une substance acétylcholinique qui peut faire contracter l'utérus de la femme : l'action pharmacologique de cette substance serait importante dans l'ascension du sperme dans l'utérus.

Le sperme contient de la CHE, mais bien moins que le sérum. Le ferment est localisé dans la plasma spermatique, les spermatozoïdes n'en contiennent pas (Zeller et Joel, 1941).

La prostate renferme une certaine quantité de CHE (10 fois moins que le sérum, par exemple), ce qui nous indique que cette glande se trouve sous la régulation cholinergique.

L'utérus, de son côté, est également sous la dépendance cholinergique. La motricité de l'utérus est commandée par le nerf hypogastrique et, comme l'a montré Sherif (1937), ce nerf agit en libérant de l'acétylcholine. En effet, après injection d'ésérine à une Chienne, l'exicitation du nerf hypogastrique fait apparaître une substance acétylcholinique dans la veine utérine. L'ésérine potentialise les effets de ce nerf.

Dans l'accouchement également, de nombreux auteurs ont voulu trouver une intervention du système ACh-CHE.

Wong et Chang (1933), ainsi que beaucoup d'autres auteurs, constatent que l'ACh est plus abondante dans les placentas au cours de l'accouchement ou de l'avortement. L'ACh provoque des contractions rythmiques de l'utérus de divers animaux et de la femme. Chang et Wong (1933) ont ainsi pu provoquer le travail par les injections d'ACh.

Davids et Bender (1940-41) montrent que la folliculine augmente la réactivité du tractus génital à l'ACh. Il semble que les réactions vasomotrices produites par cette hormone soient dues à son influence sur le système ACh-CHE.

Il est de notion courante que la Folliculine produit un effet congestionnant sur ce que nous avons appelé les « récepteurs folliculiniques » : glandes mammaires, thyroïde, muqueuses génitales et rhinopharyngées.

En fait, ces congestions de la phase folliculinique du cycle représentent un des symptômes les plus sûrs et les plus marqués de l'hyperfolliculinisme (Herschberg, 1942).

Partant de ces faits, Reynolds (1939 a) a publié une série de recherches sur la teneur en ACh des organes génitaux avant et après traitement par les œstrogènes.

Chez des Lapines non traitées (1939 a), on ne trouve que des traces d'ACh dans le tissu utérin. L'injection de Folliculine entraîne une forte hyperémie passagère, et parallèlement à celle-ci, le taux de l'ACh dans l'utérus s'élève notablement pour disparaître 6 heures après l'injection.

D'ailleurs, l'hyperémie folliculinique peut être empêchée par une injection préalable de sulfate d'Atropine.

Pendant la durée de la grossesse chez la Lapine on peut extraire de fortes doses d'ACh de l'utérus et du placenta (Reynolds et Foster, 1939 a). Le taux de beaucoup le plus fort se trouve la veille de la mise bas; il est le plus bas vers le milieu de la gestation. En somme, ce taux suit celui de la sécrétion de Folliculine.

Dans un troisième travail, Reynolds et Foster (1939 b) montrent que cette propriété de surcharger l'utérus en ACh appartient à tous les œstrogènes naturels, estérifiés ou non. Parmi les œstrogènes synthétiques, le triphényléthylène, dont on connaît la puissante action folliculinique, a le même pouvoir d'augmenter le taux de l'ACh dans l'utérus, alors que le diéthylstilbœstrol, autre œstrogène de synthèse, ne modifie pas ce taux, même à de très fortes doses.

Les muqueuses réceptrices de la Folliculine (muqueuse rhinopharyngée, muqueuse vaginale) ainsi que la vulve (Reynolds et Foster, 1940, a, b) voient également leur taux d'ACh augmenter fortement sous l'effet des injections de substances folliculiniques.

Par contre, les organes qui ne sont pas des « récepteurs folliculiniques », tels l'intestin, la rate ou le muscle squelettique (Reynolds, 1940 c) ne présentent pas de variations du taux de l'ACh sous l'effet des injections d'œstrogènes.

Pour l'utérus, il s'agit bien d'une action hormonale pure, puisque cette augmentation d'ACh par les œstrogènes survient aussi bien si l'organe est in situ ou s'il est transplanté (Reynolds et Foster, 1940 c).

Il y a d'ailleurs une différence d'espèce dans cette augmentation ; elle se manifeste chez le Lapin et le Chien, dont l'utérus reçoit une innervation cholinergique ; elle est absente chez le Chat et le Rat dont les nerfs utérins sont adrénergiques.

La peau, que l'on peut également classer parmi les récepteurs folliculiniques, participe aussi à la vasodilatation produite par une accumulation d'ACh, sous l'effet des œstrogènes. Chez la Lapine, on constate l'ouverture de nombreuses anses capillaires qui étaient auparavant fermées. Chez l'Homme, la pléthismométrie montre une augmentation du volume digital (Reynolds, 1941). Nous rappelons les manifestations congestives de l'hyperfolliculinisme clinique que nous avons décrits ailleurs.

Toutes ces recherches de Reynolds et Foster sont pourtant combattues par l'étude récente de Emmens, Macintosh et Rich-

TER (1943). En effet, ces auteurs, ne trouvent pas d'augmentation d'ACh dans les utérus d'animaux traités par les œstrogènes.

— ne peuvent constater une augmentation de la production d'ACh dans les tranches de tissu cérébral ou utérin en survie par l'adjonction de Folliculine (technique de MANN et collaborateurs) ;

— observent que la Folliculine ne modifie pas in vitro l'activité de la CHE. Seul le diéthylstilbœstrol, inhibe la CHE de 35 à 40 % et peut augmenter le taux de l'ACh des organes. Or, c'est précisément le seul œstrogène qui, d'après REYNOLDS, n'aurait pas ces effets. S'inspirant des travaux de REYNOLDS, ZELLER et ses collaborateurs ont repris l'étude de l'influence des hormones sexuelles sur la CHE du sérum et de divers organes.

Nous allons essayer de résumer toutes ces études en y ajoutant les résultats de nos propres recherches

1. *Différences sexuelles de la CHE.*

SERUM. — Chez la *Grenouille,* WENSE et GRANZNER (1939) trouvent que la CHE du sérum est plus élevée chez la femelle que chez le mâle.

Chez *le Rat,* les sérums des mâles ont une activité cholinestérasique presque inexistante. En tout cas, par la méthode de HALL et LUCAS, il est impossible de distinguer les lectures du sérum de Rats mâles des essais à blanc. Par la méthode d'AMMON, le taux de la CHE sérique des mâles est 3 à 5 fois plus faible que celui des femelles (BEVERIDGE et LUCAS, 1941).

Chez *la Souris,* cette différence existe, mais elle est moindre. Le taux des mâles représente les 2/3 du taux des femelles. Il ne s'agit pas là de la présence d'un corps inhibiteur dans le sérum mâle, car si l'on mélange les sérums des mâles et des femelles, les résultats sont égaux à la moyenne des deux sérums isolés (BEVERIDGE et LUCAS, 1941).

Chez *le Cobaye,* l'inverse se produirait ; d'après ZELLER (1942), le rapport de la CHE sérique des mâles à celle des femelles serait de 1,3.

Nos *propres recherches portant sur une série de* 250 *Cobayes* environ, n'ont jamais pu montrer nettement cette différence. Parfois même, il nous a semblé que, dans certaines séries d'animaux, les mâles avaient un taux légèrement inférieur à celui des femelles. Mais l'amplitude des variations individuelles est telle qu'il est difficile, sinon impossible, de donner des conclusions valables physiologiquement.

Chez *l'Homme,* la différence entre la CHE sérique des hommes et des femmes adultes est très faible. Les méthodes de dosage biologique n'ont pratiquement révélé aucune différence

d'activité CHE. Par la méthode d'Ammon, Zeller, Birkhauser, Wattenwyl et Wenner (1941) ainsi que Wattenwyl et Wenner (1941) trouvent dans le sérum de l'homme adulte une CHE plus active de 20 à 30 % que chez la femme. Le rapport serait de 1,4 d'après les calculs tenant compte de l'erreur moyenne.

Nos recherches personnelles, par la méthode de Hall et Lucas, ne montrent pas de différences aussi notables. Chez l'homme adulte, nous considérons comme normaux des chiffres variant entre 2,50 et 3,50 cc NaOH 0,01 N, alors que les chiffres correspondants chez la femme adulte sont de 2,25 à 3,25. Il s'agit donc d'une différence assez faible, ne dépassant pas 10 %. Ajoutons que notre étude a porté sur environ 200 dosages individuels.

FOIE. — La CHE hépatique, comme l'ont montré Zeller et ses Collaborateurs, possède des propriétés un peu différentes de la CHE sérique. Elle se place entre les deux pôles que sont la CHE sérique, d'une part, et les CHE globulaire et cérébrale, d'autre part.

Chez le *Rat,* (Birkhauser et Zeller, 1940), *la différence* entre la CHE du mâle et de la femelle est très marquée. Chez des individus adultes, les femelles produisent (par la méthode de Ammon) 65 mmc de CO^2, alors que dans les mêmes conditions, les mâles n'en fournissent que 12 mmc. Ce rapport de 5 1/2 à 1 rappelle celui du sérum de ces animaux. Il a été établi sur 14 femelles et 8 mâles, ce qui est évidemment un nombre assez restreint d'animaux, si l'on tient compte de la grande variation des taux individuels.

Chez la *Souris,* le foie est infiniment plus riche en CHE que chez le Rat. (Zeller, Birkhauser, Wattenwyl *et* Wenner, 1942). Les chiffres correspondants de la méthode d'Ammon donnent pour les femelles 240 ± 49. Il s'agit d'animaux adultes. Le rapport femelles/mâles est de 1,5 pour le foie et correspond à celui de la CHE sérique trouvé par Beveridge et Lucas dans le sérum de ces animaux (1,55). Les chiffres analogues pour le Rat sont 4,8 pour le foie et 3,7 pour le sérum. De sorte que l'on peut dire que les CHE du foie et du sérum sont également influencées par le sexe et son activité.

Le dosage de la CHE dans le foie de Cobaye et son rapport avec le sexe n'a pas été étudié.

CERVEAU. — Le cerveau possède une CHE très différente de celle du sérum ou du foie. Il s'agit, d'après les recherches nouvelles, d'un autre type de CHE, identique à celui des globules. Ce serait la vraie CHE, alors que dans le sérum et le foie on trouverait la « pseudo-CHE ».

La sexualité ne semble pas influencer la CHE cérébrale. Chez

les Rats mâles ou femelles, le taux de la CHE cérébrale est la même, grosso modo : 117 mmc chez le mâle et 120 mmc chez la femelle.

La CHE du cerveau n'a pas été explorée en fonction de la sexualité chez d'autres espèces.

2. *CHE en rapport avec l'activité sexuelle.*

Nous avons vu que certaines espèces présentaient de grosses différences de taux de la CHE sérique ou hépatique suivant le sexe chez l'animal adulte.

Que ce rapport soit dû uniquement à la fonction sexuelle est prouvé par les différences que l'on constate chez les divers individus au cours de leur évolution sexuelle, c'est-à-dire avant la puberté, pendant l'âge d'activité génitale et après celui-ci. Il est également intéressant d'étudier les faits de la gravidité.

La CHE avant la puberté.

Chez *le Rat*, les femelles impubères ont un taux de CHE hépatique infiniment plus bas que celui de l'adulte : 17 ± 2,4 mmc au lieu de 65 ± 4,6 chez l'adulte. Le taux de la Rate impubère se rapproche donc très notablement de celui du mâle adulte (12 ± 0,9) mais lui reste cependant supérieur. Chez le Rat mâle, les chiffres sont : 11 pour l'impubère et 14 pour l'adulte. (Birkhauser et Zeller, 1941). Pour le cerveau, l'âge et le sexe importent peu. Les variations en fonction de ces deux facteurs porteraient donc surtout sur la « pseudo-CHE ».

Chez *la Souris*, dont le foie, on le rappelle, a une forte teneur en CHE, les différences sont infiniment moins nettes.

Reproduisons les données de Zeller, Birkhauser, Wattenwyl et Wenner (1942).

4 femelles	impubères :	240 ± 17
	adultes :	278 ± 21
4 mâles	impubères :	178 ± 25
	adultes :	198 ± 49

On voit donc que la CHE du foie augmente au cours de l'activité génitale, chez la Souris comme chez le Rat, mais cette augmentation est relativement faible (10 - 15 %) et il est difficile de juger sur un si petit nombre d'animaux.

Chez *le Cobaye*, il ne semble pas que l'on ait recherché la différence entre individus impubères et adultes, par contre *chez l'Homme*, il existe des différences entre enfants et adultes d'après Zeller, Birkhauser, Wattenwyl et Wenner (1942). La fillette au-dessous de 14 ans (7 cas) possède une CHE sérique donnant en moyenne 334 mmc de CO^2 à l'appareil d'Ammon. La femme adulte possède un taux un peu plus bas : 225 mmc en moyenne sur 21 cas. Chez l'Homme il y a peu de variations de la CHE

sérique. La moyenne des garçons au-dessous de 14 ans (3 cas !) est de 338 mmc, donc identique à la fillette impubère. Chez l'adulte, ce taux augmente très légèrement : il est à 359 en moyenne sur 22 cas.

Donc, la CHE baisse chez la femme au cours de l'âge d'activité génitale, alors qu'elle reste haute et augmente même un peu chez l'Homme.

L'inverse se produit *après la ménopause*. Chez la femme, le taux de la CHE remonte à 326 en moyenne (sur 12 cas), alors que chez l'homme ce taux diminue après 60 ans à 285 mmc en moyenne (sur 4 cas !).

Activité génitale et CHE sérique.

Zeller et ses Collaborateurs ont montré, comme nous venons de le dire, que la CHE sérique de la femme, haute avant la puberté et après la ménopause, est relativement abaissée pendant la période d'activité génitale. Il semble certain que ces faits soient dûs aux hormones ovariennes. Toutefois, cette influence endocrinienne doit durer un certain temps, puisque les fluctuations hormonales mensuelles, bien que très marquées chez la femme ne retentissent pas physiologiquement sur le taux de la CHE sérique. De nombreux auteurs (Vahlquist, etc.) n'ont pas trouvé de variations pendant ou entre les menstruations. Il est, toutefois, impossible d'assurer que tel soit absolument le cas, cela, d'une part, parce que les auteurs n'ont étudié qu'un très faible nombre de sujets (Wattenwyl et Wenner, 3 cas) ou que, d'autre part, l'intégrité endocrinologique du cycle n'a pas été contrôlée.

La gravidité chez le *Rat blanc* augmente fortement la teneur en CHE du foie (Zeller et Birkhauser, 1941). Cette hyperactivité serait la conséquence de la surproduction de Folliculine placentaire. Le taux CHE passe de 59 mmc CO^2, avant la gravidité, à 138 mmc au 10e jour de la gestation pour baisser 24 h. après l'accouchement à 12-13. Le taux initial n'est atteint que 35 jours post partum.

CHE PENDANT LA GROSSESSE ET L'ACCOUCHEMENT NORMAL

Normalement, il ne semble pas que la grossesse modifie l'activité de la CHE sérique ou celle du sang total. Ammon et Voss (1935), Verbely (1937), Vahlquist (1935), Navratil (1937) ne trouvent pas d'altération de l'activité CHE chez la femme enceinte.

Seuls Zeller, Birkhauser, Wattenwyl et Wenner (1941) admettent une baisse de la CHE sérique chez la femme au cours de la grossesse. Cependant, il faut noter que les résultats de Zeller sont basés sur la méthode statistique et ne portent que sur un petit nombre de cas.

Considérant qu'il est primordial de vérifier le taux de la CHE chez les femmes enceintes, en se basant sur des dosages en série effectués *chez la même gestante,* nous avons repris l'étude de la CHE dans la grossesse et l'accouchement normaux. Nous avons prélevé le sang plusieurs mois de suite chez un certain nombre de gestantes et nous avons contrôlé à nouveau leur sang 5 jours après l'accouchement.

Voici les données numériques de 7 femmes enceintes, dosées chacune au moins 4 fois pendant la grossesse et 1 fois après l'accouchement. Dans tous les cas, il s'agissait de grossesses parfaitement normales au point vue clinique.

		Différence
Cas N° 1.	Variation maximum de 2,74 à 3,04	± 0,30
— N° 2.	— — de 2,52 à 2,75	± 0,23
— N° 3.	— — de 2,15 à 2,40	± 0,35
— N° 4.	— — de 2,10 à 2,50	± 0,40
— N° 5.	— — de 2,90 à 3,00	± 0,10
— N° 6.	— — de 2,65 à 2,94	± 0,29
— N° 7.	— — de 2,24 à 2,35	± 0,11

En conclusion, nous pouvons donc dire que, dans la grossesse normale, il n'y a pas de variation de la CHE sérique chez la même femme, les fluctuations observées étant celles que l'on peut constater. physiologiquement chez chaque individu. Elles ne dépassent pas 10 %, en général.

Au cours de l'accouchement normal, Vahlquist (1935) n'a pas pu constater de variation de la CHE sérique. Navratil (1937), dans un premier travail, confirme ces données.

Dans un deuxième travail, Navratil (1939) reprend en détail l'étude de la CHE au cours même de la parturition.

Sur 18 cas étudiés, 5 n'ont présenté aucune variation de l'activité enzymatique, avant, pendant et après l'accouchement. Chez les autres sujets, Navratil a constaté une augmentation de la CHE sérique avec un maximum relatif du pouvoir hydrolytique au moment même de l'expulsion. Au début du travail et dans les premières heures après la délivrance, la CHE sérique est relativement abaissée par rapport à celle du travail, pour revenir à la normale quelques heures plus après.

Ce fait peut être rapproché d'une récente constatation de Richter et Croft (1943) qui ont montré qu'un violent exercice physique entraîne une hausse assez prononcée de la CHE sérique qui revient à la normale lentement au cours des heures suivantes.

Or, l'accouchement représente une forte dépense d'énergie musculaire, correspondant à un travail physique d'environ 150 à 2.000 calories, suivant le nombre de contractions.

Nous-même avons vérifié dans 9 accouchements normaux le taux de la CHE sérique. Le sang a été prélevé à l'entrée de la parturiente en salle d'accouchement et 5 jours post-partum.

Voici nos résultats :

	Avant l'accouchement	5 jours post-partum	Différence
	—	—	—
Cas N° 8	2,70	2,70	0
— N° 9	2,46	2,65	+ 0,19
— N° 10	2,25	2,55	+ 0,30
— N° 11	2,65	2,90	+ 0,25
— N° 12	3,46	3,55	+ 0,09
— N° 13	2,55	2,75	+ 0,20
— N° 14	2,58	2,85	+ 0,27
— N° 15	3,01	3,30	+ 0,29
— N° 16	1,82	2,10	+ 0,18

Nous conclurons cette étude en disant que dans l'accouchement normal, il n'y a pas de variation importante de la CHE sérique. Cependant, on constate 5 jours après l'accouchement une légère hausse de la CHE sérique, mais qui reste dans les limites des variations physiologiques admises chez un sujet normal. Toutefois, cette hausse faible, mais presque constante, nous indique que le taux de la CHE sérique est très légèrement abaissé au début du travail. Nos constatations sont donc en concordance avec celles de Navratil.

CHOLINESTERASE ET CASTRATION

L'expérience de la castration marque très nettement l'influence des hormones génitales sur la CHE.

Chez la femme ovariectomisée, la taux de la CHE sérique monte progressivement et approche celui d'une femme après la ménopause. Zeller et ses collaborateurs (1942) trouvent un chiffre de 386 mmc de CO_2 chez la moyenne des femmes castrées, alors qu'une femme en activité génitale normale présente des valeurs cholinestérasiques de 2 à 300 mmc. (Rappelons que la femme réagit par une inactivation de la CHE aux injections de Folliculine).

DONNEES EXPERIMENTALES

Chez le Rat albinos femelle, Birkhauser et Zeller (1941) observent une chute marquée de l'activité cholinestérasique du foie après la castration totale.

Les auteurs ont étudié deux groupes de 5 rats, dont l'un fut castré et l'autre conservé comme témoin. La CHE hépatique des témoins donna en moyenne 65 mmc de CO_2, celle du cerveau, 120 mmc. Chez les castrés, 6 semaines après l'intervention, les chiffres correspondants furent de 32 ± 1,7 mmc pour le foie et 106 ± 1,1 pour le cerveau.

Donc, chez le Rat albinos femelle, la castration diminue de moitié le taux de la CHE hépatique, alors que la CHE cérébrale ne subit qu'une baisse d'activité insignifiante.

Chez le Cobaye femelle, Zeller, Birkhauser, Wattenwyl

et WENNER (1941 b) observent également une baisse de la CHE sérique après castration double. Alors que la femelle adulte normale présente un taux de la CHE sérique de 174 ± 40 mmc CO_2, la femelle après 175 jours de la castration a un taux abaissé à 121 ± 17 mmc.

Nos propres recherches ne confirment pas ce résultat. Nous avons prélevé le sang par ponction cardiaque avant et après la castration à intervalles réguliers. La castration fut pratiquée par voie dorsale chez la femelle. Nous avons ainsi pu suivre pendant plusieurs mois le taux de la CHE sérique *chez le même* Cobaye.

Voici nos résultats :

Castration des femelles et CHE sérique

Cob. N°	Sexe	Poids en gr.	CHE avant castration	CHE après castration				
				30 jours	45 jours	60 jours	75 jours	90 jours
0 1	f.	760	1,70	1,20	1,62	1,65	1,03	1,50
0 2	f.	670	1,35	1,37	2,58	2,41	2,09	—
0 3	f.	730	1,95	—	2,15	2,43	—	—
0 4	f.	600	2,32	1,88	2,32	3,00	2,90	3,23
0 5	f.	720	2,43	2,00	2,10	2,20	2,33	—
0 6	f.	780	1,66	1,70	2,85	2,42	1,89	1,86
0 7	f.	610	2,34	1,91	1,97	1,98	—	—
0 8	f.	550	2,35	2,47	2,21	2,38	—	—

Comme on peut le lire sur ce tableau, la castration de Cobayes femelles n'entraîne pas une chute constante de la CHE sérique. Chez la plupart des animaux nous observons une baisse d'activité cholinestérasique au cours du premier mois, suivie ensuite par une *période d'instabilité,* où le taux de la CHE sérique varie autour de la valeur initiale, tendant surtout à dépasser ce taux.

Donc, contrairement aux constatations de ZELLER, la castration du Cobaye femelle n'entraîne qu'une inactivation passagère de la CHE sérique, dont le taux tend à se stabiliser autour des valeurs initiales.

Le manque d'ovaires produit une chute enzymatique, mais cette déficience endocrinienne est progressivement compensée, quant à la CHE sérique, par des interventions régulatrices d'autres glandes (surrénale, par exemple).

2. *Castration chez le mâle.*

Chez les *Rats mâles,* la castration active la CHE hépatique (ZELLER et BIRKHAUSER (1941). Alors que la moyenne des mâles adultes normaux fournit 13 mmc de CO^2, celle des mâles castrés donne 18 mmc.

Chez le *Cobaye mâle,* la CHE sérique, mesurée chez les mêmes animaux avant et après castration, montre une baisse du taux fermentaire. L'évolution est donc contraire à celle de

la CHE hépatique du Rat. (Wattenwyl et Zeller, 1943 ; Wattenwyl, Bissegger, Maritz et Zeller, 1943). Les résultats de ces auteurs sont significatifs :

Moyenne de 44 Cobayes normaux : 149 ± 38 mmc CO^2
Moyenne de 33 Cobayes castrés : 122 ± 29 mmc CO^2

Etudiés sur de longues séries d'animaux, les résultats expérimentaux montrent que la castration du Cobaye mâle entraîne une baisse d'activité de la CHE sérique de 18 % environ.

Nos propres résultats, concordent entièrement avec ceux de Wattenwyl et coll.

Castration de Cobayes mâles et CHE sérique

Cob.	Sexe	Poids en g.	CHE avant castration	CHE après castration						
				30 j.	45 j.	60 j.	75 j.	90 j.	105 j.	120 j.
I	m.	420	1,71	2,00	1,07	1,32	—	1,62	1,63	—
II	m.	390	3,60	—	2,48	1,94	1,58	1,58	1,60	1,70
III	m.	340	4,80	4,42	—	—	1,67	1,95	2,02	2,17
IV	m.	480	3,60	3,22	mort					
VII	m.	470	2,75	1,90	1,38	1,25	1,58	1,42	1,85	—
VIII	m.	370	2,49	2,33	1,08	1,98	1,46	1,36	2,05	—
X	m.	360	2,07	2,65	2,55	1,85	mort			
XI	m.	590	1,83	2,08	1,49	1,71	—	—	—	—
XII	m.	560	2,67	2,06	1,87	1,78	—	—	—	—
XIII	m.	490	2,15	0,98	1,90	1,60	—	1,65	—	1,70

Si l'on fait les moyennes de nos données, on constate que 60 jours après la castration le taux de la CHE sérique du Cobaye mâle a baissé en moyenne de 40 %. Parallèlement le poids moyen des animaux a augmenté de 20 à 25 %.

Il y a donc concordance entre nos recherches et celles de Zeller. Mais le fait important que nous avons pu constater est que *la castration des mâles, comme celle des femelles, entraîne une forte instabilité de la CHE sérique.* C'est précisément cette instabilité qui est révélatrice du rôle de régulation que jouent les gonades vis-à-vis de la CHE sérique. Nous attribuons les fluctuations enzymatiques après la castration à des interventions compensatrices des autres glandes endocrines tendant à équilibrer l'absence des sécrétions génitales.

CORRECTION DES EFFETS DE LA CASTRATION PAR HORMONOTHERAPIE

A. *Femelles.*

Nous avons mentionné que chez le Rat femelle, la castration entraîne une baisse notable de l'activité de la CHE hépatique. Birkhauser et Zeller (1941) ont tenté de pallier à cette baisse en injectant aux animaux castrés du propionate d'œstradiol (dihyrofolliculine).

3 animaux reçurent pendant 3 jours 50 γ d'œstradiol par

jour, soit un total de 150 v (soit 1.500 unités de folliculine !). Cette dose n'a pas suffi, malgré l'apparition du rut, à ramener le taux de la CHE hépatique à la normale. Une dose encore plus massive de folliculine élève un peu le taux cholinestérasique, mais d'une manière peu marquée.

3 autres animaux reçurent alors 1 mgr (!) de progestérone, puis 3 fois 100 v (en tout 3.000 unités) de diproprionate d'œstradiol. Le traitement fut étalé sur 3 semaines. Cet essai fut couronné de succès, puisque la CHE hépatique de ces animaux remonta à un taux normal ou le dépassa même.

Donc, pour retrouver le taux normal de la CHE hépatique des Rates castrées, un traitement folliculinique très intense et étalé sur une longue période est nécessaire, de même qu'une préparation de l'animal par une très forte dose de progestérone.

Dans un deuxième travail, Zeller et Birkhauser (1941) montrent que la progestérone seule est incapable de relever le taux de la CHE hépatique de la Rate ovariectomisée. Cette hormone potentialise par contre l'action folliculinique.

Il est regrettable que ce travail ait été fait sur un nombre trop restreint d'animaux et que les auteurs aient utilisé des doses si massives d'hormones que l'expérience perd toute signification physiologique.

D'après Zeller et ses collaborateurs, la CHE sérique du Cobaye femelle baisse après la castration double. Pour ces auteurs le taux normal serait de 174 ± 40 mmc CO^2 chez le Cobaye normal et de 121 ± 17 chez le castré. L'implantation de cristaux de 50 mgr (500.000 unités ! ! !) de dipropionate d'œstradiol fait revenir ce taux à la normale (170 ± 5 mmc). Zeller, Birkhauser, Wattenwyl et Wenner, 1941 b) à qui est due cette expérience, n'ont étudié que *deux animaux* et ont à nouveau utilisé de telles dose d'hormone que les résultats ne peuvent être considérés comme définitifs.

Nous avons par conséquent repris cette étude :

Nous avons injecté aux femelles de Cobaye castrées (3 mois après la castration) des hormones génitales femelles. Bien qu'utilisant des doses nettement supérieures aux doses physiologiques, celles-ci restèrent bien plus faibles que celles des précédents auteurs. Nous avons pu vérifier que 1 à 5 unités de dihydrofolliculine produisent le rut chez un Cobaye castré de 5 à 600 gr. Pourtant les quantités d'hormone que nous avons administré à nos animaux furent de 1 mgr/kg soit environ 5.000 fois la dose œstrogène. Malgré ces très fortes doses répétées pendant 5 jours, la hausse de la CHE sérique ne dépassa pas 15 à 20 %.

Voici nos résultats :

Traitement par la folliculine de femelles castrées

Cob. N°	Castration depuis	CHE avant castration	CHE après castration	Doses de propionate d'oestradiol	CHE 2 jours après le traitem.	Différence en %
011	90 jours	2,09	1,50	5 × 1 mgr/kg.	1,75	+ 16 %
012	75 jours	2,03	2,09	—	2,42	+ 16 %
013	60 jours	2,62	2,43	—	2,98	+ 2,5 %
014	90 jours	2,73	3,23	—	3,58	+ 11 %
015	90 jours	1,99	1,86	—	2,48	+ 33 %

La hausse de la CHE fut donc assez faible, mais souvent avait dépassé le taux initial. Il faut préciser que nous n'avons pas constaté, comme ZELLER, une baisse de la CHE sérique chez les Cobayes femelles castrées.

En conclusion, on peut dire que bien que la castration n'entraîne pas une chute constante de la CHE sérique chez le Cobaye femelle, les injections de Folliculine activent l'enzyme, indépendamment du taux initial de celui-ci.

Par contre, la Progestérone ne modifie pas le taux de la CHE sérique.

Nous avons injecté à une série de 5 Cobayes femelles castrées la dose de 1 mgr/kg de Progestérone, en 3 fois, sans observer de variation notable de la CHE sérique de ces animaux. Ces résultats sont donc en concordance avec ceux de ZELLER.

De même nous avons pu confirmer ses constatations montrant une potentialisation de l'action folliculinique par l'hormone lutéinique.

B. *Chez le mâle.*

Nous avons vu que chez le *Rat mâle castré,* la CHE hépatique est plus active que chez l'adulte normal (ZELLER et BIRKHAUSER 1941). Ces animaux traités par la folliculine présentent une forte activation de l'enzyme qui peut atteindre 50 mmc au lieu de 13 chez le normal ou 18 chez l'animal castré. Les doses utilisées par ces auteurs sont de 150 γ d'œstradiol, administrées en 3 doses journalières.

Chez le *Cobaye mâle castré,* la CHE sérique est moins active que celle d'animaux entiers (WATTENWYL et ZELLER, 1943 ; WATTENWYL, BISSEGGER, MARITZ et ZELLER, 1943 ; nos propres recherches).

Cette baisse de la CHE peut être compensée par l'injection de fortes doses de testostérone. WATTENWYL et ses collaborateurs implantent aux Cobayes mâles castrés des cristaux de 100 mgr (! ! !) de testostérone et constatent le retour à la normale de la CHE sérique.

Voici les données expérimentales de ces auteurs :

Moyenne de 44 cobayes mâles normaux : 149 ± 38
— — 33 — — castrés : 122 ± 29
— — 41 — — castrés, puis traités par du propioanate de testostérone : 149 ± 40

L'implantation de tablettes de 100 mgr de Testostérone à des femelles castrées de Cobaye donne les résultats suivants (9 animaux par série :)

Moyenne des femelles normales : 184 ± 44
— — — castrées : 148 ± 37
— — — castrées, puis traitées par 100 mgr de Testostérone : 158 ± 38

On constate donc une légère hausse de la CHE sérique, mais qui ne retrouve pas son activité initiale. L'effet de la testostérone chez les femelles est donc plus faible que celui de la folliculine.

Nous avons repris cette étude avec des doses fortes, mais néanmoins plus modestes que celles des auteurs cités : des Cobayes mâles castrés depuis 60 à 120 jours reçurent un traitement par l'hormone mâle. Les résultats sont exprimés dans le tableau ci-dessous :

Cob. N°	Taux de la CHE avant castration	CHE après castration	Dose de testostérone injectée	CHE 2 jours après traitement	Différence en %
I	1,71	1,32	7 × 1 mgr/kg.	1,50	+ 12,5 %
II	3,60	1,58	—	2,64	+ 66,0 %
III	4,80	1,95	—	2,03	+ 4,0 %
VII	2,75	1,25	—	2,06	+ 64,0 %
VIII	2,49	1,98	—	2,52	+ 26,0 %

Le traitement des Cobayes mâles castrés par de fortes doses de Testostérone augmente l'activité de la CHE sérique d'une manière assez nette, mais en général le taux ne revient pas à sa valeur d'avant la castration. Les résultats plus complets de Zeller sont dus aux doses 15 fois plus fortes que cet auteur a utilisé.

Effets des hormones génitales chez les Rats béribériques.

Chez le *Rat béribérique*, le taux de la CHE hépatique tombe fortement au dessous de la normale (25 mmc CO_2 au lieu de 65 en moyenne). Zeller et Birkhauser (1940) supposent que cette baisse est secondaire à l'atrophie des gonades qui survient chez les animaux carencés en vitamine B_1. C'est pourquoi, Zeller, Birkhauser, Wattenwyl et Wenner (1941 b) traitent 5 Rates femelles béribériques par 3 injections de 100 γ d'œstradiol. La CHE hépatique retrouve très rapidement son activité première (56 mmc CO^2 en moyenne).

Si l'on veut remplacer la folliculine par le diéthylstilbœstrol, œstrogène de synthèse, la CHE ne varie pas, malgré l'apparition du rut chez ces animaux castrés.

EFFETS DES INJECTIONS D'HORMONES GENITALES CHEZ DES ANIMAUX ENTIERS

Nous avons cherché à savoir si dans cette augmentation d'activité de la CHE sérique il s'agissait d'effets directs des hormones génitales ou d'actions de compensation endocrinienne. C'est pourquoi nous avons soumis un lot de Cobayes normaux, mâles et femelles à un traitement hormonal très intense.

1. *Effets des injections d'hormones chez le mâle.*

Cob. N°	Poids en gr.	CHE avant traitem.	Traitement en mgr/kg.	CHE après traitem.	Différence
A	360	3,65	5×1 cc. Testiglandol	3,36	— 8 %
B	360	3,42	—	3,15	— 8 %
C	320	3,66	5×0,5 mgr. Androstérone	3,88	+ 6,5 %
D	370	3,33	5×1,0 mgr. —	3,10	— 7,3 %
E	365	3,10	5×1,5 mgr. —	2,63	— 12,5 %
F	300	2,65	5×0,5 mgr. Testostérone	2,88	+ 9,5 %
G	295	2,70	5×1,0 mgr. —	2,73	0
H	335	2,90	5×1,5 mgr. —	2,93	0

On concluera de ce tableau que l'injection de fortes doses d'hormones mâles ou d'un extrait testiculaire total (Testiglandol Roche) ne modifie pas l'activité de la CHE sérique du Cobaye mâle normal, par opposition aux constatations faites chez l'animal castré.

2. *Effets des injections d'hormones chez la femelle.*

Cob. N°	Poids en gr.	CHE avant traitem.	Traitement en mgr/kg.	CHE après traitem.	Différence
F 1	580	2,45	5×1,5 mgr. Oestradiol	3,20	+ 30 %
F 2	470	2,95	5×1,0 mgr. —	3,97	+ 33 %
F 3	360	2,71	5×0,5 mgr. —	3,10	+ 15 %
F 4	420	2,48	5×0,5 mgr. progestérone	3,60	+ 44 %
F 5	310	2,98	5×1,0 mgr. —	3,65	+ 22 %
F 6	440	3,17	5×1,5 mgr. —	3,68	+ 16 %

Chez les femelles entières, tant la folliculine que la progestérone, à fortes doses, activent nettement la CHE sérique. L'activation est grosso modo la même pour les deux hormones. Après 6 semaines, le taux initial de la CHE est retrouvé progressivement.

Donc, contrairement aux hormones mâles, les hormones femelles exercent une action activatrice sur la CHE sérique d'animaux entiers. De plus la progestérone, qui ne modifie pas le taux cholinestérasique de la femelle castrée, active celui de l'animal

entier, et cela probablement en favorisant l'action de la folliculine endogène dont les injections de progestérone augmentent la production.

Nos expériences *chez l'Homme* ont toutes eu des résultats négatifs. Nous avons pu suivre un certain nombre d'hommes recevant à des fins thérapeutiques de fortes doses de testostérone (100 à 200 mgr par mois) et un nombre assez important de femmes traitées également par de fortes doses de folliculine (40 à 60 mgr de propionate de dihydrofolliculine par mois) ou de testostérone (75 à 150 mgr par mois) ; en aucun cas la CHE sérique de ces malades n'avait subi une variatin plus importante que celles admises dans les variations individuelles physiologiques. Toutefois signalons que Zeller constate une baisse de la CHE sérique de la femme après administration de folliculine.

EXPERIENCES IN VITRO

La solution du mécanisme d'action des hormones génitales sur la CHE sérique est fournie par les expériences in vitro. Nous avons utilisé notre technique haituelle (méthode de Hall et Lucas) en mettant en contact à 37° pendant 30 minutes diverses concentrations d'hormones avec un sérum dont la CHE était connue.

A) *Folliculine.*

Nous avons pu employer une forme hydrosoluble de folliculine (Œstroglandol Roche).

Mélange	Activité de la CHE	Différence en %
0,5 cc. sérum humain (témoin)	4,09	
0,5 cc. — + 0,005 mgr. Oestradiol	4,08	0
0,5 cc. — + 0,05 — —	3,09	— 24,5 %
0,5 cc. — + 0,1 — —	2,85	— 30,0 %
0,5 cc. sérum de cheval (témoin)	3,40	
0,5 cc. — + 0,00125 mgr. Oestradiol ...	3,34	0
0,5 cc. — + 0,00250 — — ...	3,30	— 2,5 %
0,5 cc. — + 0,0250 — — ...	3,04	— 10 %
0,5 cc. — + 0,0500 — — ...	2,48	— 27 %
0,5 cc. — + 0,100 — — ...	2,35	— 30 %

On peut donc conclure que :

1. Les sérums humains et de cheval réagissent de la même manière vis-à-vis de l'hormone folliculaire.

2. Seules les très fortes doses d'hormone inhibent la CHE sérique (250 à 1.000 unités /cc) d'environ 25 à 30 %

3. Des doses moins fortes, quoique dépassant largement le cadre physiologique (50 à 100 unités /cc), restent sans action sur la CHE sérique d'homme ou de cheval.

B) Il en est de même pour *l'hormone lutéinique.*

Nous avons pu utiliser pour nos expériences une préparation hydrosoluble de Progestérone (Lutocycline soluble CIBA).

Mélange	Activité de la CHE	Différence en %
0,5 cc. sérum de cheval (témoin)	3,65	
0,5 cc. — + 0,100 mgr. Progestérone....	3,70	0
0,5 cc. — + 0,250 — —	3,46	— 7 %
0,5 cc. — + 0,500 — —	2,57	— 28 %

Une fois de plus, seules les doses très fortes inhibent légèrement la CHE du sérum de cheval. Des quantités nettement supériueres aux données physiologiques (0,200 mgr/cc) restent sans effet sur l'enzyme.

En conclusion, nous pouvons dire que l'influence qu'exercent les hormones sexuelles sur la CHE sérique n'est pas directe, mais qu'elle s'exerce par l'intermédiaire d'autres relais endocriniens, encore peu définis, mais où l'hypophyse et la surrénale doivent jouer un rôle important.

DISCUSSION

Si nous comparons les données expérimentales de Zeller et coll. avec les nôtres, nous pouvons faire les constatations suivantes :

1. Il existe des différences sexuelles du taux de la CHE sérique et hépatique. Chez le Rat et la Souris, ce taux est plus haut chez la femelle que chez le mâle, alors que chez le Cobaye et chez l'Homme, on peut faire l'observation inverse. Toutefois, nos recherches n'indiquent qu'une différence minime (10 %) dans les deux dernières espèces.

Contrairement à la « pseudo-CHE » sérique et hépatique, la CHE spécifique du cerveau ne subit pas de variation sexuelle.

2. Les divers taux de la CHE sérique avant la puberté, pendant l'âge d'activité génitale et après la ménopause, montrent nettement la dépendance de l'activité cholinesérasique des sécrétions gonadales. L'évolution se fait inversement à l'action des hormones sexuelles, chez la femme.

3. La castration des femelles, contrairement aux données de Zeller n'entraîne pas toujours une baisse d'activité de la CHE sérique du Cobaye. Son effet le plus constant est une instabilité très forte du taux cholinestérasique.

Par contre, chez le mâle, la castration diminue l'activité de la CHE sérique. Cette castration est en partie compensée par l'injection d'hormones homologues.

Ces hormones stabilisent le taux enzymatique chez la femelle.

4. L'injection d'hormones sexuelles à des Cobayes entiers, mâles et femelles, montre que les hormones mâles ne modifient pas l'activité de l'enzyme, alors que la folliculine et la progestérone activent nettement la CHE sérique.

5. In vitro, les hormones sexuelles n'exercent aucune influence sur la CHE sérique de l'Homme ou du Cheval.

Comment s'exerce cette influence des hormones sexuelles sur la CHE ?

Les expériences in vitro permettent d'exclure une action directe sur le ferment. C'est d'ailleurs à la même conclusion qu'est arrivé ZELLER. Cet auteur considère que les hormones génitales entraînent une production excessive d'ACh au niveau des récepteurs folliculiniques. (Cf. travaux de REYNOLDS) et l'hyperactivité de la CHE, serait une réaction de défense de l'organisme contre l'excès d'ACh. Le cerveau ne présente pas d'augmentation de la CHE, car d'après ZELLER il contient suffisamment d'enzyme pour réagir à l'accroissement de production de folliculine. Pour nous, si cet organe ne réagit pas aux hormones folliculaires, c'est qu'il ne fait pas partie des « récepteurs folliculiniques ».

S'agit-il d'une disparition d'inhibiteur sous l'effet des hormones ? ZELLER et ses collaborateurs ont pensé que l'histamine pourrait être un de ses inhibiteurs. Mais nous avons montré ailleurs que cette diamine n'inhibe pas normalement la CHE.

Nous considérons que l'action des hormones génitales sur la CHE est due aux réactions d'autres glandes endocrines. La castration entraîne de profonds changements fonctionnels et anatomiques de l'hypophyse, de la surrénale et de la thyroïde. Il est possible qu'un excès d'hormones anté-hypophysaires entraîne l'inhibition de la CHE. Nous avons exposé ci-dessus que les extraits hypophysaires avaient in vivo des effets inhibiteurs de la CHE chez le Cobaye.

D'autre part, des doses physologiques d'hormones sexuelles ne modifient pas la CHE sérique des animaux castrés. Par contre les doses nécessaires pour ramener le taux enzymatique à la normale sont énormes. ZELLER et ses collaborateurs ont utilisé jusqu'à 100 mgr de testostérone ou d'œstradiol pour arriver à un taux cholinestérasique normal. Or, ces doses sont tellement massives qu'elles doivent inhiber durablement les fonctions hypophysaires et empêcher ainsi l'inactivation de la CHE produite par une hypersécrétion d'hormones pituitaires.

Nos vues sont corroborées par les expériences que nous avons relatées dans le chapitre consacré à l'hypophyse.

Alors que les extraits hypophysaires sont peu actifs chez le Cobaye entier, ils inhibent nettement la CHE sérique des animaux castrés. Nous interpréterons ce fait par la possibilité d'une réaction compensatrice des glandes génitales chez l'animal entier, alors que cette réaction est irréalisable chez le castré.

L'on a pu observer certaines divergences dans les résultats expérimentaux de ZELLER et les nôtres. Nous expliquons ces différences de résultat par le fait que nos méthodes sont différentes :

a) nous étudions la variation de la CHE chez *le même* animal, alors que ZELLER utilise la méthode statistique, que le petit nombre d'animaux en expérience et leurs variations individuelles du taux de la CHE rend impropre à ces recherches.

b) nous employons dans nos essais d'hormonothérapie des doses infiniment plus faibles que celles de cet auteur. Nous nous approchons ainsi davantage des conditions physiologiques.

Influence des acides aminés sur la cholinestérase

Etude de l'action anti-acétylcholinique de l'histidine

Nous avons recherché l'influence des acides aminés sur la cholinestérasase sérique. Cette étude nous a semblé justifiée par les rares renseignements, la plupart contradictoires, que l'on peut relever à son propos dans la littérature. D'autre part cette question nous apparait d'un intérêt indéniable au point de vue théorique car en démontrant l'action que certains acides aminés exercent sur l'activité d'un ferment, elle fournit une illustration nouvelle de la notion d'un *rôle fonctionnel* de ces acides aminés. Nous avons particulièrement exploré l'activation de la cholinestérase par l'*histidine*, dont le pouvoir anti-acétylcholinique a été signalé lors de ces dernières années.

Un très petit nombre d'auteurs donnent des indications sur l'influence des acides aminés soit sur la contraction acétylcholinique du muscle, soit sur l'action de la cholinestérase. Fontaine (1935) indique que la tyrosine, le glycocolle, l'arginine n'exercent aucune action sur la contraction acétylcholinique du muscle dorsal de Sangsue ésériné ou non. Nachmansohn et Lederer (1939), par dosage manométrique (Barcroft-Warburg) de la cholinestérase de l'organe électrique de la Torpille inactivée par dialyse, trouvent que la cystine, la cystéine, le glycocolle, le glutathion réactivent ce ferment. Ils concluent que le groupement SH- intervient dans le système enzymatique de la cholinestérase. Zeller (1942), par la méthode d'Ammon, sur différentes cholinestérases, indique que l'acide para-amino-benzoïque inhibe légèrement la cholinestérase et son action inhibitrice sur le ferment s'ajoute à celle que déterminent les sulfamides. Pourtant, Riechert et Schnarrenberger (1942) concluent que l'acide para-amino-benzoïque de même que les sulfamides n'ont aucune action inhibitrice sur la cholinestérase.

RECHERCHES EXPERIMENTALES

I. *Action de certain acides aminés sur la cholinestérase sérique*

Nous avons étudié l'influence de quelques acides aminés sur la cholinestérase sérique par la méthode de Hall et Lucas.

Dans tous nos dosages, les acides aminés, utilisés sous forme libre ou saline, ont été soigneusement neutralisés dans leur solution aqueuse par NaOH, puis mis en contact à l'étuve à 37° C pendant 15 minutes avec une quantité donnée de sérum de Cheval.

Pour chaque dosage, une lecture témoin a été faite (sérum auquel on a ajouté une quantité d'eau distillée neutre correspondant à la quantité de la solution d'acide aminé ajoutée dans le sérum pour obtenir la concentration désirée).

Dans le tableau XII nous consignons les influences des acides aminés étudiés, exprimés en pourcentage d'activation ou d'inhibition, pour trois concentrations différentes sur un sérum de Cheval dont l'activité enzymatique était de 4,40 ccm NaOH.

TABLEAU XII

Acides aminés	Activations de la cholinestérase en % en fonction de la concentration		
	4 °/₀₀	8 °/₀₀	2 %
d-Alanine	+ 9 %	+ 14 %	+ 15 %
d-Arginine base	+ 5 %	+ 9 %	+ 31 %
Cystéine chlorhydrate	0	0	0
Glycocolle	+ 5 %	+ 17 %	+ 23 %
I-Histidine base	+ 15 %	+ 24 %	+ 32 %
d-Lysine chlorhydrate	+ 9 %	+ 30 %	+ 35 %
I-Proline	0	+ 4 %	+ 13 %
Tryptophane	0	0	0

(Sérum de cheval témoin à cholinestérase haute : 4,40).

Il est impossible de préciser un pourcentage d'activation fixe pour chaque acide aminé, car le résultat est éminemment variable suivant le sérum et dépend du taux initial de la cholinestérase. Cependant la proportionalité résumée dans le tableau a été retrouvée lors de tous nos dosages. Ce sont les trois bases hexoniques, l'Histidine, la Lysine et l'Arginine qui se sont révélées, in vitro, les plus énergiques activateurs de la cholinestérase. Pour un sérum de Cheval, dont l'activité enzymatique est normalement haute (3,50 à 4,50), l'activation maxima ne pourra guère dépasser 35 à 45 %. Mais pour un sérum de Cheval dont la cholinestérase est basse (1,80, voir tableau XIII), cette activation atteint ou dépasse même 100 %.

TABLEAU XIII

Acides aminés	Concentration dans le sérum	Résultats sur la cholinestérase en %
d-Alanine	2 %	+ 22 %
Arginine HCl	2 %	+ 116 %
Histidine HCl	2 %	+ 100 %
Lysine HCl	1,5 %	+ 76 %
Proline	2 %	+ 17 %
Tryptophane	2 %	0

(Sérum de cheval témoin à cholinestérase basse : 1,80).

Dans le tableau XIV nous voyons également que les sels des acides aminés sont doués de la même propriété que les bases et que les résultats varient peu qu'il s'agisse du sel ou de l'acide libre.

TABLEAU XIV

Acides aminés	Concentration dans le sérum	Activations de la cholinestérase en ccm NaOH 0,01n en 20'		
		sérum témoin	sérum traité contact 15'	en %
Carbonate d'arginine....	4‰	4,40	5,18	+ 17,5 %
	8‰	3,69	4,66	+ 26 %
	2 %	2,58	3,37	+ 24 %
Chlorhydrate d'histidine.	4‰	4,10	5,13	+ 20 %
	8‰	3,25	4,78	+ 32 %
	2 %	2,49	3,82	+ 35 %
Proline.....	4‰	2,93	2,98	0
	8‰	2,76	2,89	+ 4 %
	2 %	1,63	1,86	+ 13 %

Le pourcentage d'activation, qui est limité par la nature même de la cholinestérase, n'est pas proportionnel à la concentration des acides aminés dans le sérum. Une concentration de 2 %, dans toutes nos expériences, nous a donné une activation maxima (tableau XIV).

Ainsi, avec le carbonate d'arginine et le chlorhydrate d'histidine, l'activation maximale a été obtenue avec une concentration de 8 %, tandis qu'avec la proline, activateur moins énergique, le maximum n'est atteint qu'à la concentration de 2 %.

Ces résultats ont été systématiquement retrouvés, dans leur allure générale, avec les sérums de Cobaye et d'Homme.

Nous avons plus particulièrement étudié l'action sur la cholinestérase de l'histidine, puisque cet acide aminé est utilisé en thérapeutique.

II. *Action de l'histidine sur la cholinestérase*

Halpern (1939) signala le premier que la contraction par l'acétylcholine de l'intestin isolé était inhibée par l'histidine, contrairement à l'avis d'Edlbacher, Jucker et Baur (1937), d'Ackermann et Wasmuth (1939). Edlbacher et ses collaborateurs ont montré que l'histidine, comme l'arginine et la cystéine, exerçaient une action inhibitrice sur la contraction à l'histamine de l'intestin isolé de Cobaye ; ils soutinrent que cette action était spécifique, qu'elle n'existait pas avec l'acétylcholine et ils la proposèrent même comme test de diagnostic diwérentiel. Cependant, la diminution de la réponse à l'acétylcholine de l'organe traité par l'histidine est un phénomène absolument certain, que nous avons retrouvé et qui est confirmé par ailleurs par Jadassohn, Fierz et Vollenweider (1943) et par Credner et Schumrick (1943).

Ces auteurs considèrent en général cette action antagoniste de l'histidine sur la réaction acétylcholinique comme un phénomène non spécifique, dû à une influence hypotonisante sur les muscles de l'organe réactif. En effet, l'histidine, de même que

l'arginine, la cystéine et quelques polypeptides contenant les acides aminés en questions diminuent ou abolissent les contractions du muscle viscéral déterminées par d'autres sustances. C'est ainsi que l'antagonisme a été observé avec l'histamine (Edlbacher et ses collaborateurs) pour les contractions à l'extrait posthypophysaire et au chlorure de baryum par Halpern (1939), pour la réaction anaphylactique de l'organe isolé par Ackermann et Wasmuth.

Toutefois, lors de nos recherches nous avons constaté que l'histidine n'exerçait aucune action hypotonisante sur la musculature intestinale ou utérine isolée, c'est-à-dire à l'état de repos physiologique. Ce fait avait déjà été signalé autrefois par Guggenheim et Lœffler. (1915).

Mais par contre, le muscle contracté physiologiquement ou pharmocologiquement, que ce soit par l'acétylcholine ou par le chlorure de baryum et mis en état d'hypertonie du système cholinergique est relâché et hypotonisé après adjonction d'histidine.

Nos recherches nous permettent d'apporter à ce phénomène une interprétation nouvelle. *C'est par l'activation de la cholinestérase musculaire que l'histidine, comme certains autres acides aminés, est un inhibiteur de la contraction acétylcholinique.*

a) *Etude sur le rectus abdominis de Grenouille.*

Le muscle droit de l'abdomen de Grenouille (Chang et Gaddum) est un réactif de choix pour la mesure de l'activité acétylcholinique. Dans le cas particulier, il présente pour nous l'avantage d'être insensible à l'histamine.

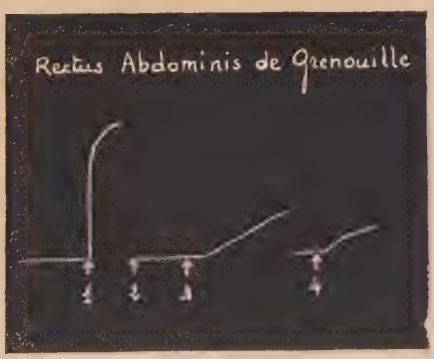


Fig. 7

Fig. 8

Dans la figure 7, nous étalonnons le muscle avec une concentration d'acétylcholine de 0,2 v/ccm (1). Après lavage, décontraction et repos, nous traitons le muscle par une solution de chlorhydrate d'histidine à 0,16 % pendant 3 minutes (2). Sans laver, on ajoute la dose étalon d'ACh. Après un temps de latence

qui n'existait pas dans la courbe 1, on obtient une contraction faible et lente (3). Après des lavages successifs et un repos, cette inhibition de la contraction acétylcholinique est durable et intense (4).

La figure 8 montre que de très faibles concentrations d'histidine sont actives. Après étalonnage à 1 v/ccm d'ACh (1) on traite le muscle pendant 5 minutes par une solution d'histidine 1 v/ccm (2). La contraction obtenue avec la dose étalon d'ACh est beaucoup plus faible (3). Cette diminution de contraction persiste après 15 minutes de repos et plusieurs lavages (4).

Sur la figure 9 la courbe 1 représente l'étalonnage avec 0,2 v/ccm. En 2 on traite par l'histidine à 0,16 % pendant 3 minutes. La contraction avec la dose étalon d'ACh est très diminuée (3). En 4, sur une autre préparation étalonnée on voit l'action d'un

Fig. 9

Fig. 10

mélange d'ACh (0,2 v/ccm) et d'histidine (0,16 %). Dans ce cas, il n'y a aucune diminution de l'amplitude de la contraction, ce qui démontre que l'antagonisme n'est pas dû à une action chimique directe entre l'ACh et l'histidine.

La figure 10 nous montre que cet antagonisme est bien dû à une action de l'histidine sur la cholinestérase du muscle. En effet, si on ésérine le muscle à raison de 20 v/ccm de salicylate d'ésérine pendant 40 minutes (1), ce qui inhibe totalement la cholinestérase, la contraction témoin due à l'ACh (1 v/ccm [2]) est identique à celle obtenue (4) après un traitement par l'histidine (0,16 %) pendant 5 minutes (3).

Par contre, on voit sur la figure 11, que si l'on active auparavant la cholinestérase par l'histidine (1, étalonnage ACh 1 v/ccm ; 2, histidine 0,16 % pendant 3 minutes ; 3, ACh 1 v/ccm) le traitement du muscle (4) par l'ésérine (20 v/ccm pendant 20 minutes) augmente la contraction à la dose étalon d'ACh (5). Cette expérience montre que la cholinestérase activée par l'histidine peut être inhibée par l'ésérine, mais à un degré

qui n'est pas comparable avec l'inhibition obtenue habituellement sur un muscle non histidiné.

Figure 12 : Un muscle étalonné avec l'ACh 1v/ccm (1) traité pendant 20 minutes par un mélange d'ésérine (40 v/ccm) et d'histidine (0,16 %) (2), donne une contraction diminuée (3) qui

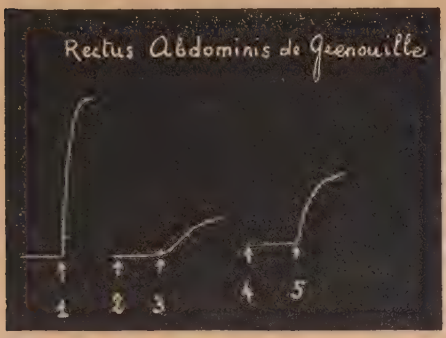


Fig. 11

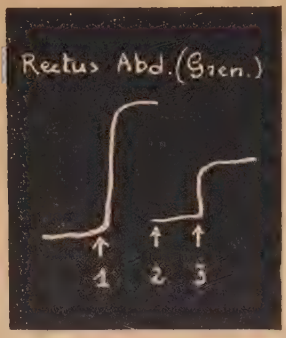


Fig. 12

témoigne de la prédominance de l'activation de la cholinestérase par l'histidine sur inhibition, pourtant très puissante, de ce ferment par l'ésérine.

Il ressort de cette étude :

1° que l'histidine diminue la sensibilité du muscle de Grenouille à l'acétylcholine ;

2° que cette diminution est durable et s'observe avec des concentrations minimes (1 v/ccm) ;

3° que cette action est due à une propriété pharmacodynamique de l'histidine, qui active la cholinestérase musculaire, activation puissante puisqu'elle compense l'inhibition produite par l'ésérine.

b) *Cholinestérase sérique et histidine.*

La cholinestérase sérique (Homme, Cheval, Cobaye), est fortement activée par l'histidine. Cette activation dépend du pouvoir enzymatique initial du sérum étudié mais correspond dans l'ensemble, pour une concentration de 2%, au maximum d'activation que l'on peut obtenir. Elle est d'autant plus élevée que le taux normal de la cholinestérase du sérum étudié est bas et s'observe déjà avec des dilutions très fortes. Elle est proportionnelle, en général, à la concentration.

Le tableau XV représente une de nos séries expérimentales pour un même sérum (dont la cholinestérase est exceptionnellement basse).

TABLEAU XV

Concentrations dans le sérum de chlorhydrate d'histidine en gr /ccm.	Activité de la cholinestérase en ccm NaOH n /100 en 20'		Résultats en %
	sérum témoin	sérum histidiné	
0,02	1,88	3,58	+ 90 %
0,004	1,88	3,22	+ 71 %
0,0004	1,88	2,85	+ 52 %
0,00004	1,88	2,60	+ 38 %
0,000004	1,88	2,00	+ 7 %
0,0000004	1,88	1,80	— 3 %

L'activation ne dépend pas du sel employé : l'histidine-base donne une accélération identique au chlorhydrate d'histidine :

	4° /oo	8° /oo	2 %
-Histidine-base	+ 15 %	+ 24 %	+ 32 %
- Histidine-HCl	+ 20 %	+ 32 %	+ 35 %

Le phénomène est général : toutes les cholinestérases d'espèces ou d'organes que nous avons explorées ont été activées par l'histidine (cholinestérases musculaires de Grenouille ou d'hétérothermes ; cholinestérases sériques d'Homme, de Cobaye et de Cheval). Nous l'avons retrouvé sur l'hémolymphe d'Escargot, dont le pouvoir saponifiant de l'acétylcholine est très élevé et qui voit son activité hydrolytique largement doublée sous l'effet de l'histidine à 2 %.

Compétition entre l'histidine et l'ésérine

L'inhibition de la cholinestérase obtenue par l'ésérine est considérablement amoindrie lorsqu'on met en contact avec le sérum de Cheval l'histidine et l'ésérine en même temps.

TABLEAU XVI

Modificateurs	Activité de la cholinestérase en ccm NaOH n /100 en 20'		Résultats en %
	sérum témoin	sérum traité	
Ésérine 10-⁴, contact 15'	3,26	0,68	— 80 %
Histidine-HCl 2 %, contact 15'	3,26	5,94	— 50 %
Histidine-HCl 2 % + ésérine 10-⁴, contact 15'	3,26	2,28	— 31 %

c) *Expériences in vivo*

Nous avons retrouvé l'activation de la cholinestérase sérique in vivo par l'histidine sur le Cobaye et sur l'Homme. Cependant la réaction ne s'observe pas d'une façon absolument constante, comme c'est le cas pour nos expériences in vitro. Certaines

séries d'animaux (Cobayes) nous ont donné des résultats positifs ; chez d'autres aucune variation n'a pu être observée. Il en est de même chez l'Homme. Il nous est impossible encore de saisir la cause de cette inconstance.

1° *Sur le Cobaye.*

Nous avons injecté au Cobaye pendant 3 jours 0,04 g de chlorhydrate d'histidine par voie sous-cutanée. Le quatrième jour, le taux de la cholinestérase sérique avait augmenté en moyenne de 65 %. Cette activation est durable et la cholinestérase ne retrouve son taux normal que 15 jours après l'arrêt des injections. De plus, si l'on continue chez le Cobaye les injections d'histidine à raison de 0,04 g par jour pendant une plus longue durée (8 à 15 jours) on ne peut dépasser le pourcentage d'activation obtenu dès les premières injections.

2° *Sur l'Homme normal.*

On retrouve une activation analogue à celle décrite chez le Cobaye. C'est ainsi que 45 minutes après une administration intra-veineuse de 0,20 g de chlorhydrate d'histidine, la cholinestérase sérique est augmentée de 50 %.

Une cure d'histidine détermine une élévation de la cholinestérase sérique de 30 à 50 % environ. Cette hyperactivité persiste pendant plusieurs semaines. Les chiffres les plus élevés que nous ayons enregistré chez l'Homme étaient ceux de malades ulcéreux traités d'une façon prolongée et intensive par l'histidine. Toutefois les réactions de la cholinestérase aux injections d'histidine sont éminemment variables, parfois négligeables et mériteront d'être précisées.

DISCUSSION

Il y a lieu de distinguer dans le groupe des substances pouvant accélérer l'hydrolyse enzymatique de l'acétylcholine, les réactivateurs et les activateurs proprements dits de la cholinestérase. Parmi les réactivateurs, on classe les substances capables de rendre son activité initiale à une cholinestérase préalablement inactivée (par dialyse ou par inhibition ionique). Ce sont les cations bivalents, comme l'ont prouvé Massart et Dufait (1939) et Nachmansohn (1940), ainsi que la cystéine, le glutathion, etc. (Nachmansohn et Lederer, 1939). Nous-même avons ajouté à cette liste l'acide ascorbique (Frommel, Herschberg et Piquet, 1944).

Les activateurs proprements dits entraînent une hyperfonction d'un ferment normalement actif : Keeser (1938) classe parmi ceux-ci le glutathion, la pilocarpine et le sympathol. Pour Heim et Fahr (1940), l'urée serait également activatrice de la cholinestérase. Nos propres études ont permis de constater l'activation ce ferment par les sels de Mg et les hyposulfites (Frommel, Herschberg et Piquet, 1944).

Ammon (1942), dans un travail récent, reprenant l'étude de l'urée, du glutathion, de la pilocarpine et du sympathol, considère tous ces corps comme inactifs et même inhibiteurs à forte concentration. Il conclut en disant que jusqu'à présent seuls quelques ions métalliques sont des activateurs de la cholinestérase. Aucune substance organique ne serait, d'après lui, capable d'activer une cholinestérase dont le fonctionnement est normal.

Nous venons de montrer que l'activation de la cholinestérase est également le propre de certains acides aminés : ceux-ci, agissant sur diverses cholinestérases intactes, peuvent augmenter la scission enzymatique de l'acétylcholine dans des proportions notables.

Il est difficile, dans l'état actuel de nos connaissances sur la structure chimique de la cholinestérase, de préciser le mécanisme intime de cette activation.

On ne peut parler, dans nos conditions expérimentales, d'une néo-formation de ferment, puisque l'activation est la plus constante in vitro, c'est-à-dire loin de tout organe pouvant former de la cholinestérase nouvelle. Il semble donc que l'acide aminé activateur doive se fixer sur la molécule fermentaire et en augmenter le rendement. Nos expériences de compétition entre l'ésérine et l'histidine indiquent que cette fixation ne se fait probablement pas sur les mêmes groupements de la molécule ; en effet, les actions contraires de ces deux substances sur la cholinestérase s'additionnent simplement, chacune ne semblant pas influer sur l'effet de l'autre.

Il est également difficile de déterminer par quel radical chimique l'acide aminé activateur se fixe sur le ferment. Alors que l'on sait que l'inhibition spécifique est surtout due au groupements uréthane et ammonium quaternaire (Stedman, Clark et Raventos) qui viennent se substituer au substrat naturel du ferment, l'acétylcholine, nous ne savons pas encore quel est le groupement chimique responsable de l'activation. En effet, si les plus forts activateurs sont représentés par les bases hexoniques, d'autres acides aminés exercent la même influence. D'autres encore sont totalement inactifs. Il ne peut donc s'agir du groupement NH_2 et cela d'autant plus que les amides des acides aminés en général sont des inhibiteurs de la cholestérase. Il en est de même pour le groupement imino- qui ne se trouve pas dans tous les acides aminés activateurs, alors qu'il est présent dans d'autres qui sont inhibiteurs ou inactifs.

Signalons enfin que si l'on substitue le radical amine par des groupements méthyle, l'effet change totalement : ainsi le glycocolle, comme nous l'avons montré, est activateur, alors que la bétaïne est fortement inhibitrice.

Ackermann et Fuchs (1939), Ackermann et Wasmuth (1939) ont fait par ailleurs une étude très approfondie du mécanisme chimique de l'actin inhibitrice de certains acides aminés sur la contraction histaminique. Ils la considèrent comme une sorte de

compétition entre les antagonistes de l'histamine et l'histamine elle-même pour le récepteur musculaire. On pourrait éventuellement appliquer ce même raisonnement, chimiquement très discutable à notre avis, à l'antagonisme entre les acides aminés et l'action acétylcholinique. Nous croyons avoir prouvé clairement que cet antagonisme relève de l'activation de la cholinestérase musculaire par les acides aminés étudiés.

Il en est de même pour l'antagonisme de ces acides aminés envers la contraction déterminée par d'autre spasmogènes (ésérine, chlorure de baryum, extrait post-hypophysaire). En effet, le mécanisme de la contraction des organes isolés par ces spasmogènes doit être attribuée à une inhibition de la cholinestérase de l'organe, qui facilite l'action de l'acétylcholine physiologiquement sécrétée par cet organe. Cet effet est très marquée sur l'intestin, dont on connait la très grande production continuelle d'hormone cholinergique.

En résumé, nous avons observé que :

1° Le glycocolle, l'alanine, la proline et les bases hexoniques (l'arginine, la lysine et l'histidine) activent in vitro la fonction de la cholinestérase. Cette activation dépend du taux initial de la cholinestérase du sérum étudié : elle est d'autant plus forte que ce taux est normalement bas.

2° La cystéine et le tryptophane se sont révélés indifférents.

3° Le pouvoir activateur de l'arginine, de la lysine et de l'histidine est largement supérieur à celui des autres acides aminés étudiés.

4° Nous avons particulièrement exploré l'action anti-acétylcholinique de l'histidine, sur le muscle isolé de Grenouille. Cette propriété est la conséquence de l'hyperfonctionnement de la cholinestérase sous l'influence de l'histidine.

5° In vivo, l'histidine est un fort activateur de la cholinestérase sérique du Cobaye et de l'Homme, mais cette activation est variable d'un individu à l'autre.

6° C'est par l'activation de l'hydrolyse enzymatique de l'acétylcholine par l'histidine, l'arginine et la lysine, que l'on doit interpréter l'action anti-acétylcholinique, déjà connue, de ces acides aminés sur les organes isolés.

Influence de l'histamine sur l'action de l'acétylcholine et de la cholinestérase

Les liens qui unissent l'histamine au système para-sympathique, en particulier à l'acétylcholine ne sont pas encore nettement établis. Certaines réactions provoquées par l'injection d'histamine s'apparentent aux propriétés de l'acétylcholine (chute de la pression artérielle, bronchospasme, contraction de la musculature lisse, sécrétions glandulaires, etc).

On admet communément que l'attaque de l'histamine se fait directement sur les capillaires, les muscles lisses et les glandes, sans influence sur le système nerveux végétatif (Dale). Cependant l'activité histaminique se manifeste en grande partie par une paralysie du sympathique et une excitation du parasympathique.

C'est ainsi que la contraction musculaire dégage une certaine quantité d'histamine proportionnelle à l'intensité et à la durée de la contraction (Anrep, Marcou). La contraction des muscles lisses isolés, sous l'influence de l'acétylcholine, se traduit par une libération d'histamine qui ne se produit plus si ces muscles sont préablablement atropinisés (Ambache et Rarsoum).

On est ainsi amené à se demander si l'histamine exerce une influence sur la fonction cholinergique. En d'autres termes, il est intéressant de savoir si l'histamine renforce ou contrecarre l'action de l'acétylcholine sur les muscles et les glandes et d'autre part si cette diamine produit une action activatrice ou inhibitrice sur la cholinestérase.

Un certain nombre d'auteurs ont tout d'abord recherché l'influence de l'histamine sur la contraction acétylcholinique du muscle. Minz (1932), sur le muscle de Sangsue éseriné, signale que l'histamine n'influence pas la contraction par l'acétylcholine, que l'histamine soit ajoutée avant, après ou en même temps que l'acétylcholine. Bayer et Wense (1936) sur le muscle de Sangsue non éseriné constatent une sensibilisation du muscle à l'action de l'acétylcholine. La dose seuil d'acétylcholine (10 γ/ccm) s'abaisse de 10-20 fois après une imprégnation du muscle pendant 15 minutes par l'histamine (40 γ/ccm). Une concentration d'histamine plus forte (100 γ/ccm) augmente ce phénomène. Après lavage, cette sensibilisation diminue, mais subsiste cependant encore.

Plus nombreux sont les travaux concernant l'action de l'histamine sur la cholinestérase. Ammon (1933) ne signale aucune modification de la destruction de l'acétylcholine par la cholinestérase en ajoutant au mélange de sérum de cheval et d'acétylcholine au moment du dosage une quantité d'histamine de 50

v/ccm. Bayer et Wense (1936), étudiant la cholinestérase des Paramécies, trouvent une diminution de l'activité de ce ferment à une température de 37° C par rapport aux résultats des dosages faits à 5° C. Ils concluent que ce sont les produits de désintégration protéidique, en particulier l'histamine, qui protègent l'acétylcholine contre son ferment destructeur. Par le procédé de Galehr et Plattner, ils obtiennent une inhibition totale de la cholinestérase du sérum humain, après un contact de 5 minutes avec une concentration d'histamine de 50 v/ccm. Wens- (1937) revenant sur ces expériences, prouve que c'est bien l'histamine qui est en cause dans l'inhibition de la cholinestérase des paramécies à 37° C. (Concentration d'histaminé : 100 v/mm.) A plus faible concentration (10 v/ccm) l'inhibition est légère, avec 1 v/ccm elle est nulle. Zeller (1941) souvent cité pour l'inhibition de la cholinestérase par l'histamine, se contente de mentionner dans son mémoire les travaux de Wense et découvre que deux autres substrats de la di-amino-oxydase (la cadavérine et l'agmatine) freinent également l'activité de l'enzyme. Le ferment destructeur de l'histamine est en même temps inhibé par la choline et surtout par l'acétylcholine. Enfin, Werle et Stuttgen (1942) observent également une inhibition de la cholinestérase du sérum humain par l'histamine. Utilisant les méthodes de Ammon et de Hall et Lucas, ils obtiennent les blocages enzymatiques suivants : 84 % pour 100 v/ccm ; 90 % pour 200 v/ccm ; 100 % pur 800 v/ccm.

RECHERCHES EXPERIMENTALES

A. *Etude de l'action acétylcholinique en présence d'histamine*

Nous avons étudié l'influence d'une solution d'histamine sur la réponse à l'acétylcholine du muscle dorsal antérieur de Sangsue, du cœur d'Escargot et du muscle rectus abdominis de Grenouille.

Nous avons toujours employé dans nos recherches une solution de chlorhydrate d'histamine.

1. *Muscle dorsal antérieur de Sangsue.* Le muscle dorsal antérieur de Sangsue n'est *pas éséríné.* La préparation, stabilisée, est traitée par l'histamine (40 v/ccm) après étalonnage à l'acétylcholine. On n'observe aucune action. Sans lavage, après un contact de 5 minutes avec l'histamine, on ajoute la dose étalon d'acétylcholine (2 v/ccm) : la contraction obtenue est double de celle de l'essai témoin (fig. 13). Cette sensibilisation à l'acétylcholine persiste après plusieurs lavages.

L'adjonction préalable d'histamine (40 v/ccm) inactive par elle-même, sensibilise donc le muscle de Sangsue non éséríné à l'action de l'acétylcholine. Sur le muscle éséríné nous n'avons pas observé ce phénomène, conformément aux résultats de Minz et de Kwiatkowsky.

Nous avons voulu savoir s'il s'agissait d'une action d'ordre général ou d'une influence spécifique sur la contraction à l'acétylcholine. Pour ce faire, nous avons constaté que les contractions obtenues au moyen du ClK (500 v/ccm), dose liminaire,

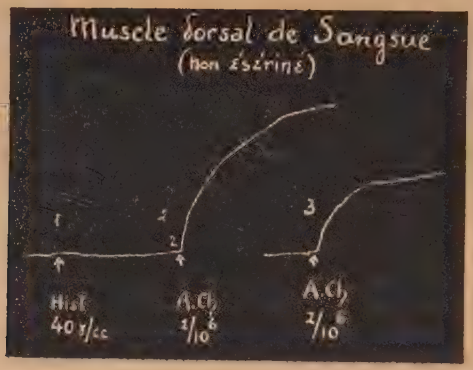


Fig. 13

Sensibilisation du muscle dorsal de Sangsue (non ésériné) à la contraction acétylcholinique par l'histamine.

ne diffèrent pas sur une préparation normale ou histaminée (fig. 14). Il s'agit donc d'une action propre à la contraction acétylcholinique.

2. *Cœur d'Escargot.* Le cœur isolé d'Escargot (Helix Pomatia)

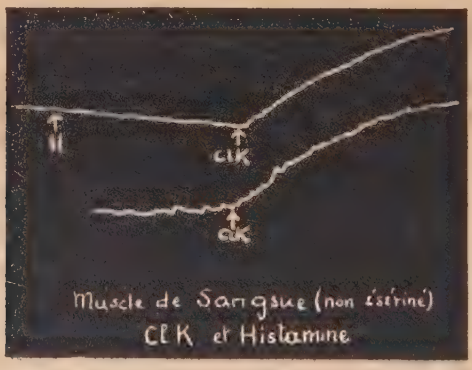


Fig. 14

Contraction du muscle de Sangsue non ésériné par le ClK. Pas de sensibilisation par l'histamine.

est suspendu dans un Ringer spécial isotonique à l'hémolymphe. Après une stabilisation de 15-30 minutes, le cœur se contracte à un rythme régulier qui dure plusieurs heures. On étalonne le muscle avec des doses de plus en plus fortes d'acétylcholine, afin d'obtenir les effets inotrope et chronotrope négatifs.

Une concentration d'acétylcholine (0,04 γ/ccm) ne détermine pas d'arrêt de la contraction cardiaque mais une baisse de tonus qui disparait rapidement. Après lavage, l'adjonction d'histamine (40 γ/ccm) donne une augmentation de l'amplitude précédemment constatée par JULLIEN, VINCENT, VUILLET et BOUCHET (1939).

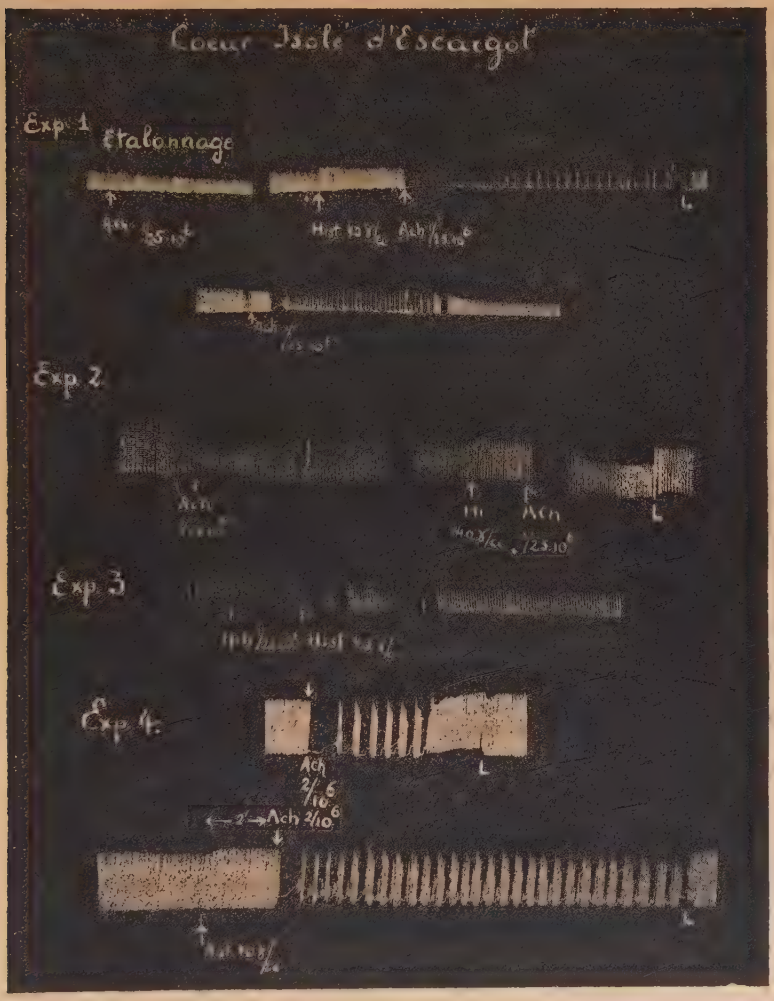


FIG. 15. — Cœur isolé d'Escargot. Explications dans le texte.

Sans lavage, la même dose d'acétylcholine détermine une arrêt du cœur suivi d'une reprise spontanée, mais lente et progressive, des contractions. Cette sensibilisation persiste, bien qu'affaiblie, après plusieurs lavages (fig. 15, expériences 1 et 2). Dans l'expérience 3 de la même figure, on constate que le cœur peu sensible à la dose étalon d'acétylcholine, présente une arrêt immédiat après

adjonction d'histamine (40 v/ccm), ajoutée sans lavage. Ce fait est contraire à nos constatations sur le muscle de Sangsue, où l'histamine doit être obligatoirement administrée avant l'acétylcholine, pour potentialiser son action. L'expérience 4 montre un cœur très hyperkinétique, pour lequel la dose seuil d'acétylcholine est plus forte que précédemment (2 v/ccm). L'acétylcholine n'apporte que des modifications du rythme, après un arrêt très bref. Cette arythmie est très nettement prolongée par un traitement préalable par l'histamine, et on ne peut l'arrêter que par lavage.

3. *Muscle rectus abdominis de Grenouille.* Nous avons utilisé la méthode décrite par Chang et Gaddum (1933). Le rectus abdominis de Grenouille (Rana esculenta) est suspendu dans une solution de Ringer-Loke. Nos expériences ont porté sur le muscle non ésériné et ésériné.

Fig. 16
Muscle rectus abdominis de Grenouille, non ésériné. Etalonnage et sensibilisation par l'histamine.

a) *Muscle non ésériné.*

Après étalonnage à l'acétylcholine (fig. 16), on constate qu'un contact de 3 minutes avec 1 v/ccm d'histamine détermine une contraction acétylcholinique nettement plus ample. Des concentrations plus fortes d'histamine (10 v/ccm) ne donnent pas une sensibilisation plus marquée. Par contre, le temps de contact intervient ; surtout pour des muscles peu sensibles. Par exemple, un muscle exigeant de fortes doses d'acétylcholine (4 v/ccm), ne se sensibilise qu'après un contact prolongé (30 minutes) avec l'histamine (1 v/ccm). La sensibilisation persiste après plusieurs lavages.

b) *Muscle ésériné.*

Une inhibition totale de la cholinestérase du muscle par une forte concentration de salicylate d'ésérine (20 v/ccm) pendant

30 minutes, ne permet pas de constater de différence entre la contraction acétylcholinique du muscle histaminé ou non. Une concentration plus forte d'histamine (40 v/ccm) reste également inopérante. En soumettant le muscle à une solution d'ésérine plus faible (1 v/ccm) pendant 45 minutes, on obtient, par contre, une sensibilisation additionnelle avec l'histamine (40 v/ccm) (fig. 17).

De nos recherches sur le rectus abdominis de Grenouille, on peut conclure que l'histamine par elle-même ne produit aucune contraction du muscle ésériné ou non. Sur le muscle non ésériné, on retrouve la sensibilisation observée avec les autres réactifs biologiques, sensibilisation qui est durable, proportionnelle au

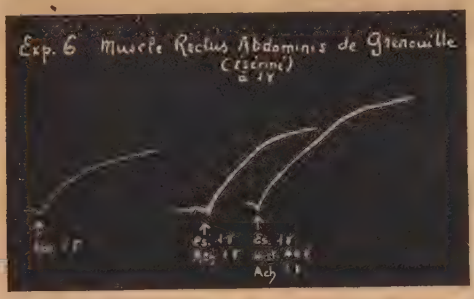


FIG. 17

Muscle rectus abdominis de Grenouille, partiellement ésériné. L'histamine produit une sensibilisation surajoutée.

temps de contact, mais sans relation avec la concentration d'histamine au dessus de la dose seuil. Sur le muscle ésériné, cette sensibilisation disparaît. Mais lorsque le muscle est incomplètement ésériné, l'action de l'histamine s'ajoute à celle de l'ésérine.

B. *Action de l'histamine sur la cholinestérase*

Nous avons étudié l'action de l'histamine sur la cholinestérase in vitro et in vivo.

1. *Recherches in vitro.*

a) *Méthode de* GALEHR et PLATTNER. On prend 1 ccm de sérum de cheval, dilué dans 2 ccm de Ringer-Locke. On ajoute 1 ccm d'une solution d'acétylcholine à 1 : 1.000. Après un contact d'une minute, on arrête la réaction en précipitant le mélange par 1 ccm d'acide trichloracétique à 20 %. Après filtration, 1 ccm du filtrat est dilué 250 fois dans du Ringer-Locke et ramené à la neutralité par addition de bicarbonate de soude. On dose alors la quantité d'acétylcholine détruite par la cholinestérase du sérum de cheval en mesurant la hauteur de la contraction du muscle rectus abdominis de Grenouille ésériné et étalonné. Pour

juger de l'action de l'histamine nous l'avons mis en contact avec le sérum pendant 20-30 minutes à l'étuve à 37° C. Nous avons testé ensuite par cette méthode l'activité de la cholinestérase.

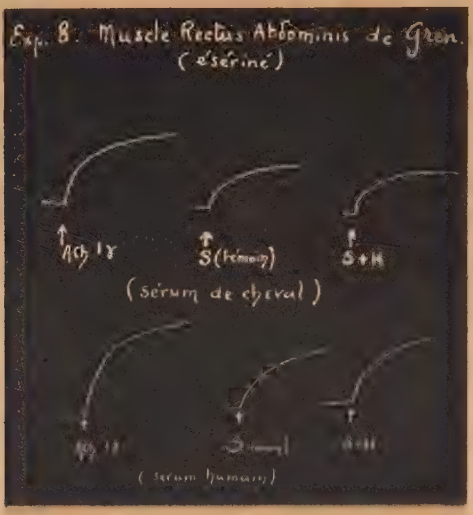


Fig. 18. — Muscle rectus abdominis de Grenouille, ésériné fortement. En haut : expérience avec le sérum de cheval. En bas : expérience avec le sérum humain. Dans les deux séries, de gauche à droite : étalonnage à l'acétylcohline (1 /ccm.), puis contraction obtenue après contact de la même dose d'acétylcholine avec le sérum normal, pendant 60 secondes, enfin même essai avec le sérum histaminé.

Il n'y a pas eu de modification notable de la fonction cholinestérasique du sérum de cheval, que celui-ci ait été en contact avec l'histamine ou non (fig.18).

b) *Méthode de* Hall et Lucas. L'histamine a été mise en contact avec le sérum à étudier et le dosage a été pratiqué soit immédiatement après le mélange soit après un délai de 30 minutes à l'étuve à 37° C.

Les résultats sont différents suivant la nature du sérum :

a) *Sérum de cheval :* L'action de l'histamine aux concentrations suivantes (100, 50, 10, 5, 1, 0,5, 0,1, et 0,01 γ/ccm) ne donne pas de modifications de l'activité de la cholinestérase, suffisamment marquées pour permettre d'en tirer une conclusion. Il faut toutefois noter que les chiffres obtenus sont légèrement plus bas (5-15 %) dans le cas du dosage immédiat que dans celui fait après 30 minutes de contact.

b) *Sérum de Cobaye :* L'histamine exerce dans ce cas une nette inhibition sur la cholinestérase sérique. Elle varie suivant les concentrations (100, 10 et 1 γ) et le temps de contact, de 10-30 %. On ne peut cependant établir de relation fixe entre l'inhibition de la cholinestérase et la concentration d'histamine.

c) *Sérum humain :* Nous retrouvons des résultats semblables à ceux obtenus avec le sérum de Cobaye. La cholinestérase sérique de l'Homme est inhibée dans une proportion variant également de 10-30 %.

2. *Recherches in vivo.*

Nous avons étudié trois lots de Cobayes. Le premier a reçu deux fois par jour une injection sous-cutanée d'un milligramme de chlorhydrate d'histamine. Le second lot a été soumis à des injections quotidiennes de 0,1 mg d'histamine par voie sous-cutanée. Les Cobayes constituant la troisième part, ont reçu en une seule fois 2 mg d'histamine en injection intrapéritonéale ; cette dose a déterminé un choc mortel chez 4 Cobayes sur 5. Les prises de sang ont été pratiquées à la 30e minute, c'est-à-dire au moment de l'acmé du choc.

Le tableau XVII donne les résultats détaillés de ces expériences. Il nous conduisent aux conclusions suivantes : Les variations du taux de la cholinestérase sérique chez le Cobaye soumis à de fortes ou de faibles doses d'histamine, répétées ou uniques, ne dépassent pas dans l'ensemble celles des Cobayes témoins et la marge de l'erreur expérimentale. Toutefois, dans le cas du choc histaminique, une baisse de la cholinestérase pourrait être masquée par l'hémoconcentration concomitante du choc.

TABLEAU XVII

Cobayes Sexe	Cobayes poids en gr.	CHE avant expér.	Dose reçue d'histamine en g/animal	CHE après expér.	Différence en %	Moyenne	Observations
			Intoxication chronique				
f.	540	2,80	13 × 0,001	2,80	0		mort par choc
f.	540	2,65	14 × 0,001	2,85	+ 7 %	— 1 %	
f.	650	3,41	9 × 0,001	3,00	— 11 %		
f.	700	3,36	5 × 0,0001	3,00	— 11 %		
f.	445	3,58	5 × 0,0001	3,01	— 17 %	— 8 %	
f.	405	2,98	8 × 0,0001	2,53	— 9 %		
f.	320	3,15	8 × 0,0001	3,34	+ 5 %		
			Choc histaminique				
f.	350	2,86	1 × 0,002	2,67	— 6 %		choc mortel
f.	390	2,95	1 × 0,002	3,50	+ 16 %		id.
m.	490	3,64	1 × 0,002	3,52	— 3 %	— 6,8 %	id.
m.	300	3,72	1 × 0,002	3,03	— 21 %		id.
m.	470	3,08	1 × 0,002	2,36	— 20 %		id.
			Témoins (variations de la CHE pendant le temps de nos exp.)				
f.	450	2,82	—	2,50	— 10 %		dosage après 10 jours
f.	535	2,80	—	2,60	— 8 %	— 9,3 %	id.
f.	480	3,25	—	2,95	— 10 %		id.

Discussion

1. *Effet de l'histamine sur l'action acétylcholinique.*

Nos résultats confirment ceux publiés par Bayer et Wense sur le muscle de Sangsue non ésériné. Nous avons étendu la

recherche au cœur d'Escargot et au rectus abdominis de Grenouille. L'histamine, qui n'exerce par elle-même aucune influence contractile, sensibilise nettement le muscle à l'action de l'acétylcholine. D'autre part, nous avons utilisé des doses qui se rapprochent plus de la réalité biologique que celles employées par d'autres auteurs.

Une concentration d'histamine à 1 v/ccm exerce une action qualitativement semblable à celle de l'ésérine. Cet effet est peu modifié par la concentration d'histamine, mais est proportionnel au temps de contact. La sensibilisation ainsi obtenue est durable et persiste un certain temps malgré les lavages. Nous avons en outre observé une légère différence d'espèce : le cœur d'Escargot et le muscle de Sangsue sont plus sensibles que le rectus abdominis de Grenouille à l'action de l'histamine ; cette variation tient probablement à la nature différente de leur cholinestérase musculaire.

L'action de l'histamine apparaît comme spécifique. C'est ainsi que la contraction du muscle de Sangsue par le ClK n'est pas modifiée par l'adjonction d'histamine.

Par ailleurs, le muscle largement ésériné ne manifeste plus ce phénomène de sensibilisation par histamine. Mais lorsque la concentration d'histamine est réduite, son action s'ajoute à celle de l'ésérine.

Ceci semble prouver que l'histamine inhibe la cholinestérase musculaire de la même manière que l'ésérine. Il est possible également que d'autres propriétés de l'histamine contribuent à ce fait.

2. *Action de l'histamine sur la cholinestérase sérique*

Nous avons été frappé par la discordance des résultats publiés par les auteurs sur l'action de l'histamine sur la cholinestérase sérique. C'est ainsi qu'Ammon ne constate aucune inhibition avec le sérum de Cheval, alors que Bayer et Wense sur le sérum humain et la cholinestérase des Paramécies, Werle et Stuttgen sur le sérum humain observent une inhibition marquée. Nous avons pensé qu'il serait intéressant de rechercher si ces différences n'étaient pas le fait de l'origine spécifique de l'enzyme.

En effet, pour le sérum humain et le sérum de Cobaye, nous avons enregistré une inhibition alors qu'avec le sérum de cheval aucune modification n'a pu être décelée. Ce résultat mérite d'être souligné et montre le danger des généralisations dans l'étude des ferments.

D'autre part, certains auteurs ont employé des doses d'histamine très fortes (100-100 v/ccm) avec des temps de contact de 24 heures. Nous nous sommes efforcé de nous rapprocher de la réalité tant par la concentration que par le temps contact. Dans le cas d'une libération pathologique d'histamine l'inhibition de la cholinestérase, si elle existe, doit en effet être immédiate pour justifier d'un rôle dans la symptomatologie.

L'étude sur l'animal nous a également indiqué la différence qui se manifeste entre les modifications fonctionnelles de la cholinestérase in vitro et in vivo. L'intoxication chronique chez le Cobaye avec de fortes ou de faibles doses d'histamine ainsi que le choc histaminique ne déterminent pas d'inhibition notable de la cholinestérase sérique. Entrent en jeu dans ce résultat les multiples réactions de défense de l'organisme.

En résumé, nous avons obtenu les résultats suivants :

1. L'histamine sensibilise le muscle dorsal antérieur de Sangsue, le cœur d'Escargot et le muscle rectus abdominis de Grenouille à l'action de l'acétylcholine.

2. Cette sensibilisation est qualitativement analogue à celle produite par l'ésérine. On peut constater la sommation des deux actions, lorsque chacune d'elles n'est pas totale.

3. Nous supposons que l'histamine agit en inhibant la cholinestérase musculaire ; elle ne potentialise pas l'action du K sur le muscle de Sangsue non ésériné.

4. L'étude de la cholinestérase in vitro nous a montré que les enzymes des sérums de l'Homme et du Cobaye étaient légèrement inhibés, alors que la cholinestérase du sérum de Cheval ne réagissait pas à l'adjonction d'histamine.

5. L'intoxication chronique avec de faibles ou de fortes doses d'histamine, le choc histaminique, n'entraînent pas de modification notables de la fonction cholinestérasique du sérum.

Effets des ions inorganiques sur l'activité de la cholinestérase sérique

I. Études, in vitro, sur le sérum de cheval

L'importance toujours croissante que l'on attribue à l'action des ions inorganiques dans les régulations cellulaires et humorales, les dystonies du système nerveux végétatif consécutives à des déséquilibres ioniques, nous ont incité à entreprendre une recherche systématique des effets des ions sur la cholinestérase.

Cette étude soulève plusieurs questions à la fois théoriques et pratiques :

— théoriques, dans le sens d'un examen plus approfondi de la cinétique de la cholinestérase. En effet, Rœpke suppose que la liaison entre l'enzyme et son substrat naturel, l'acétylcholine, se fait par un échange ionique. L'apport d'ions hétérogènes pourrait entraîner une perturbation dans cette liaison entre l'enzyme et son substrat, créant de nouveaux équilibres fonctionnels (inhibitions ou activations de l'hydrolyse fermentaire de l'acétylcholine). Ce fait est d'autant plus intéressant que, anticipant sur notre exposé, nous pouvons déjà insister sur la forte activité des cations et la faible influence des anions, sauf dans certaines circonstances qu'il faudrait élucider.

— pratiques, dans le sens de la recherche du mécanisme pathogénique de certaines intoxications par les sels inorganiques.

Car si, dans de telles intoxications, le trouble anatomique est indiscutablement dû à l'action directe du toxique sur les parenchymes, nous ne doutons pas qu'une partie au moins des symptômes morbides ne relève d'un trouble nerveux végétatif basé sur une destruction insuffisante de l'acétylcholine.

Historique

L'influence des ions inorganiques sur l'activité du système nerveux végétatif et des drogues sympathico- et parasympathicomimétiques a fait depuis une vingtaine d'années le sujet de nombreux travaux. L'étude de la concentration en ions K et Ca des milieux de perfusion des organes en survie et l'influence du rapport Ca/K sur l'activité cholinergique a donné lieu à de vives discussions. En résumé, il semble qu'on puisse dire que le K est un synergique de la transmission cholinergique, alors que le Ca est un antagoniste de celle-ci. Toutefois, le Ca augmente également l'action de l'acétylcholine, lorsqu'il est en forte concentration (Clark 1927-1928, riche bibliographie sur la question).

Mais dès que les travaux de Lœwi (1926) eurent identifié le

« Vagusstoff » à l'acétylcholine et indiqué que son inactivation se faisait par une estérase, nombre d'auteurs se sont demandé si l'action des ions n'avait pas ce ferment pour point d'attaque.

Dès 1930, MATTHES étudie l'action de plusieurs ions sur l'activité hydrolytique du sang envers l'acétylcholine et trouve que seul le fluorure est inhibiteur. Cette inhibition fut confirmée par PLATTNER et HINTNER (1930) ; KAHLSON et UVNAS (1935) ; MASSART et DUFAIT (1939) ; GAUTRELET et SCHEINER (1939) ; ABDON (1940).

Cependant, les inhibiteurs ioniques de la cholinestérase ne jouèrent dans l'étude de celle-ci qu'un rôle bien secondaire ; ils étaient éclipsés par un inhibiteur spécifique d'une rare puissance : l'ésérine.

Il fallut attendre ces toutes dernières années pour voir des auteurs étudier certains autres ions (KAHANE et LEVY, 1936 ; MENDEL, MUNDELL et STRELITZ, 1939 ; MASSART et DUFAIT, 1939 ; NACHMANSOHN et LEDERER, 1939; NACHMANSOHN, 1940) mais cela par des méthodes si différentes, que les résultats sont souvent contradictoires d'un auteur à l'autre.

Il en est résulté des confusions, surtout dans les interprétations théoriques de certains faits (sensibilisation à l'action de l'acétylcholine des divers réactifs biologiques).

Notre intention fut donc de reprendre ces recherches antérieures par une méthode unique, et de soumettre un nombre d'ions organiques encore inexplorés à une étude systématique.

Deux séries de méthodes furent utilisées : l'une sur la cholinestérase du sérum in vitro à laquelle on ajoute la substance dont on veut connaître l'activité directe sur le ferment, l'autre sur l'animal à qui l'on injecte des toxiques minéraux, afin de fixer le retentissement de la drogue sur la cholinestérase d'un organisme vivant, dont les réactions de défense sont intactes.

Enfin, les résultats des deux séries précédentes ont été vérifiés par des méthodes biologiques, sur le muscle rectus abdominis de Grenouille, suivant la méthode de CHANG et GADDUM ; sur une cholinestérase de Vers : le muscle dorsal antérieur de la Sangsue, selon la technique de FUHNER-MINZ ; et enfin sur une cholinestérase de Mollusque, celle de l'hémolymphe et du cœur d'Escargot (Helix Pomatia).

Méthode

Nous avons pris comme source de ferment le sérum de cheval, qui est très riche en cholinestérase (STEDMAN, (1933), HALL et LUCAS, (1937). Le sang prélevé par saignée, avant l'abatage, est recueilli dans un récipient stérile ; on le laisse coaguler spontanément à la température ambiante. Puis on le met à la glacière pendant un certain temps afin de faire exsuder le sérum, que l'on décante. Après centrifugation, le sérum est conservé à la glacière dans un flacon stérile.

Nous avons contrôlé que dans ces conditions, le sérum de cheval conserve son pouvoir cholinestérasique intact pendant au moins 18 à 20 jours. Cette donnée est d'ailleurs confirmée par de nombreux auteurs.

Les sels étudiés étaient dilués dans de l'eau distillée, puis mélangés au sérum dans les proportions voulues. La solution ionique était neutre, de façon que son adjonction au sérum n'en modifie pas le pH.

Les sels employés étaient en général des corps stables. Dans le cas de l'action cationique, nous avons pris soin de choisir un anion inactif sur la cholinestérase (chlorure, sulfate, nitrate) et inversément, si l'on voulait étudier l'anion, le cation correspondant était toujours le Na (dont l'effet sur la cholinestérase, sauf à de très fortes concentrations, est nul).

Nous tenons à préciser la manière dont nous avons calculé nos dilutions. L'inhibiteur, comme nous l'avons dit, est mis en contact avec le sérum pendant 30 minutes à l'étuve. C'est à ce stade de contact où l'ion agit directement sur la cholinestérase que nous avons calculé les concentrations d'inhibiteur ou d'activateur. Au moment de la mesure de l'activité cholinestérasique la solution fermentaire et son inhibiteur sont dilués 1 : 20. Donc, si l'on ne tient compte que de la concentration finale lors de la réaction acétylcholine-cholinestérase, il faudrait diviser tous nos chiffres de 20.

Ce fait pourrait rendre compte également de certaines de nos divergences avec d'autres auteurs.

Nous avons adopté pour notre travail la méthode de HALL et LUCAS.

a) *Cinétique de l'inhibition*

L'inhibition par un ion inorganique ne se fait pas instantanément. Elle n'est pas spécifique au ferment, comme celle de l'ésérine, par exemple. Elle n'atteint jamais le freinage complet de la cholinestérase. Comme on peut le voir sur la figure 19, qui

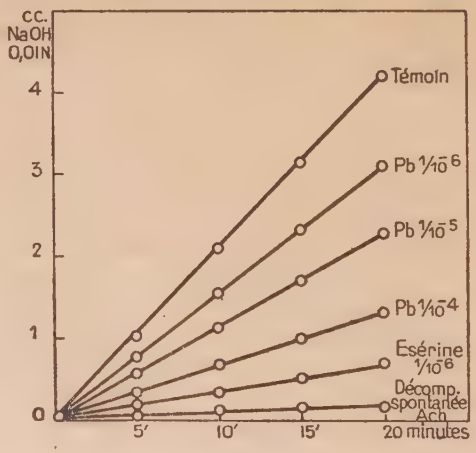


FIG. 19

Cinétique de la réaction et d'une inhibition ionique (Plomb), comparée à celle produite par l'ésérine (1 γ /ccm.). — Cette figure représente le type de chacune de nos expériences. L'ampliation autour de chaque point de dosage n'a jamais dépassé 5-10 %.

représente le graphique type de chacune de nos expériences, elle est proportionnelle à la concentration.

b) *Influence de la durée de contact*

L'étude de l'inhibition de la cholinestérase par l'ésérine, qui est spécifique et presque totale, et que nous prendrons toujours comme critère de comparaison, s'établit progressivement. Divers essais nous ont prouvé qu'elle n'atteint une action inhibitrice marquée (90-95 %) qu'après 30 minutes au moins de contact avec le ferment. L'inhibition maximum ne se produit d'après Eason et Stedman *qu'après 9 heures.*.

L'établissement de l'inhibition maximum est d'ailleurs plus ou moins tardif avec les diverses concentrations de l'alcaloïde.

Il en est de même pour une inhibition ionique. S'établissant graduellement, elle atteint son niveau maximum après un temps assez variable, suivant les concentrations et la nature des sels employés. D'ailleurs plus la dilution est grande, plus le temps de contact doit être long.

Ayant atteint son niveau maximum, elle reste fixe pendant pluseiurs heures, si le produit inhibiteur est stable (sulfate de lithium par exemple) ou elle diminue progressivement, et le ferment se débloque, si l'inhibiteur se décompose (thiosulfate d'or, par exemple). Ce fait est illustré par la figure 20.

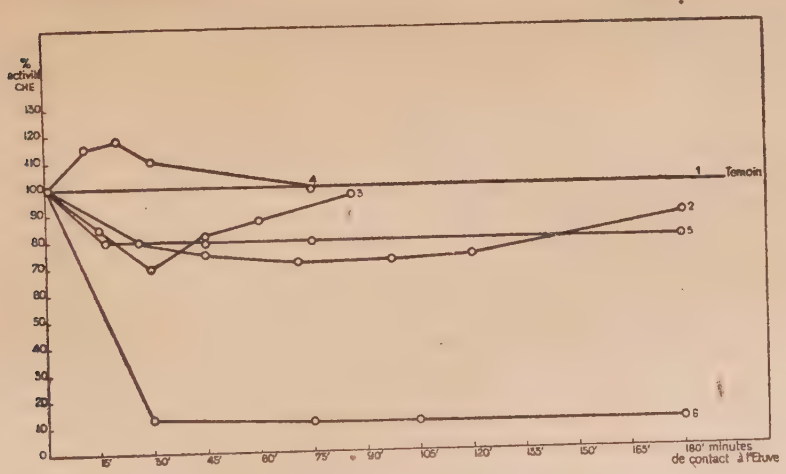


Fig. 20. — Étude de l'action des modifications ioniques de l'activité cholinestérasique en fonction de temps.

Courbe 1 : Témoin (sérum non modifié), fixe pendant la durée de l'expérience.
Courbe 2 : Thiosulfate d'or (1 /10.000).
Courbe 3 : Thiosulfate d'or (1 /100.000), type de l'inhibiteur instable.
Courbe 4 : Hyposulfite de sodium (1 /1.000), comme type d'activateur instable.
Courbe 5 : Sulfate de Lithium (1 /10.000), comme type d'inhibiteur stable.
Courbe 6 : Effet de l'ésérine à 1 /100.000.

Choix des conditions d'expérience

Nous avons insisté sur ces tests préliminaires, afin de montrer la raison de nos conditions d'expérience.

Voulant étudier l'action des divers ions, à diverses concentrations, nous avons décidé de choisir des constantes pour les autres éléments variables. Ainsi, dans toutes nos expériences, nous avons pris :

Un temps de dosage fixe : 20 minutes.

Une concentration de ferment fixe : 0,5 ccm de sérum dilués à 1/20.

Une concentration du substrat fixe : 25 mgr d'acétylcholine base.

Un temps de contact entre l'inhibiteur et le sérum fixe : 30 minutes à l'étuve à 37° C. Ceci afin de pouvoir comparer l'inhibition obtenue avec celle de l'ésérine qui produit un effet très marqué après 30 minutes de contact.

Un seul élément est variable : la concentration du sel employé. Nous avons utilisé la dilution décimale afin de pouvoir rapprocher nos recherches avec les données de la toxicologie. Mais nous avons ensuie marquée sur nos courbes la correspondance en mol-gr.

EFFET DES IONS SUR LA CHOLINESTÉRASE DU SÉRUM DE CHEVAL

Les anions

Cyanures. Un certain désaccord semble régner au sujet de l'influence de l'acide cyanhydrique et des cyanures sur l'activité de la cholinestérase.

Kahane et Levy (1936) considèrent l'HCN comme un inhibiteur assez faible. 0,1 g de CNK correspondraient à 1 gamma d'ésérine. Wieczoreck (1938), par contre, lui accorde un pouvoir très inhibiteur. Travaillant sur une préparation concentrée de cholinestérase extraite de l'organe électrique de la Torpille et inactivée par dialyse, Nachmansohn et Lederer (1939, a, b) constatent que le CNH réactive la fonction de ce ferment. Toutefois Massart et Dufait (1939), faisant la même expérience, mais sur une cholinestérase extraite du sérum de cheval, nient le pouvoir activateur de CNNa et du SCNNa.

Pour Fegler et Kowarczyk (1939), des concentrations de CNNa suffisantees pour paralyser la respiration, restent sans effet sur la CHE du sang, du muscle et du cerveau de Rat et de Chat. Ces expériences, pratiquées in vitro, furent complétées par des essais in vivo : l'injection de CNNa au Chien, à dose mortelle, ne modifie pas l'action cholinestérasique du sang.

De même Ammon (1943) reprenant l'étude in vitro, constate que la forte concentration de CNK de 0,125 mgr/ccm n'inhibe la CHE du sérum de Cheval que de 15 %.

Pratiquement, il semble que l'on puisse nier toute influence des cyanures sur la CHE.

Les Halogènes

Fluor. Dès la découverte de l'hydrolyse enzymatique de l'acétylcholine, et avant même l'isolement du ferment spécifique, on a essayé d'empêcher cette hydrolyse par le fluor, inhibiteur général des fermentations.

Matthes, en 1930, a montré que le fluorure de sodium inhibe la destruction enzymatique de l'acétylcholine, mais il utilisa une très forte concentration : alors que toute l'acétylcholine est hydrolysée par du sérum dilué dans une solution de Tyrode en 2 minutes, on trouve encore 40 % de l'acétylcholine mise en jeu après une heure, si le Tyrode est remplacé par une solution isotonique de FNa.

Pour Plattner et Hintner (1930), on pourrait obtenir par le FNa une inhibition de cet enzyme aussi complète que par l'ésérine. Ainsi, une concentration de 1/10.000 produit une inhibition de 45 % ; on freine l'activité de la CHE de 70 % avec 1/4.000 et de 90 % avec 1/2.000 de FNa.

Reprenant cette étude en 1935, Kahlson et Uvnas constatent une inhibition fermentaire à partir de la concentration de 1/10.000, mais, même en augmentant la concentration du FNa, elle ne serait jamais totale comme avec l'ésérine.

Cette expérimentation, faite selon la technique de Plattner et Hintner (1930), avec dosage sur le muscle rectus abdominis de Grenouille et le muscle dorsal de Sangsue, montre un fait intéressant : le temps de latence, si important pour l'ésérine, qui exerce son action progressivement, n'existe pas pour le FNa.

D'après ces auteurs également le SiF^6Na_2 a la même action inhibitrice que le FNa.

Employant leur méthode biologique, Gautrelet et Scheiner (1939) montrent que, si l'on compte pour 100 inhibition de la cholinestérase du sérum de Cheval obtenue par 3 gammas d'ésérine/ccm, il faut 2 mgr de FNa pour obtenir une inhibition égale à 0,15 seulement. Il se peut que cette discordance soit due à la méthode biologique des auteurs.

Enfin, en 1939, Massart et Dufait confirment le fait que le FNa inhibe l'activité de la cholinestérase : après 30 minutes de contact, une concentration de m/50 de FNa freine la cholinestérase de 95 %.

Ils constatent d'autre part (Dufait et Massart, 1940) que le FNa contrecarre le fonctionnement de la cholinestérase plus fortement sur le versant acide que sur le versant alcalin du pH optimum de ce ferment.

Par ailleurs, les fluorures sensibilisent le muscle de la Sang-

sue et le rectus abdominis de Grenouille vis-à-vis de l'ACh, même à très faibles concentrations (10^{-5}). Cette sensibilisation est due à l'inhibition de la CHE du substrat réactif.

L'inhibition de la CHE se retrouve dans l'intoxication accidentelle par le fluorure de sodium chez l'Homme. Les symptômes de cet empoisonnement ressemblent fort à ceux de l'intoxication ésérinique : contractions musculaires toniques, secousses fibrillaires, salivation, etc...

Vu ces nombreux travaux et leur concordance générale, nous n'avons pas repris l'étude de ce métalloïde.

Chlore. Pour tous les auteurs (Matthes, (1930 ; Kahane et Levy, (1936), et nos expériences le confirment, l'ion Cl n'a aucune action sur la cholinestérase.

Brome. Sel étudié : BrNa, 10 aq. P.M. 295,6.

Si Matthes considère que le Bromure de Sodium est indifférent envers la cholinestérase, nos expériences infirment cette constatation. Nous avons trouvé, comme on peut le voir sur la fig. 21, que le BrNa inhibe in vitro la cholinestérase sérique de 64 à 18 % suivant les concentrations (M/29,56 à M/29,560,000).

Iode. Sel étudié : INa, 4 aq. P.M. 222.

Pour Matthes, l'iodure de sodium, même à forte concentration, ne modifie pas l'activité de la cholinestérase. Par contre, Nachmansohn et Lederer (1939), étudiant le blocage du groupement SH- du ferment, constatent que l'iode à la concentration de M/58,000 inhibe la cholinestérase de 85 % après 3 heures d'incubation.

Nous ne pouvons que confirmer ces vues. Nos expériences ont montré, qu'après 30 minutes d'incubation avec l'INa, la cholinestérase du sérum de cheval était inhibée de 35 % pour une concentration de M/22,2 et qu'à M/22,200 cette inhibition était nulle (voir fig. 21.)

Les différences quantitatives entre nos résultats et ceux de Nachmansohn et Lederer seraient dues à la dissemblance des méthodes. Alors que ces auteurs travaillent sur une préparation pure et concentrée de CHE, nous utilisons la CHE du sérum, non concentrée et surtout entourée d'autres albumines qui doivent fixer une forte proportion de l'iode ajouté au sérum.

Sulfate. L'ion SO^{4}" n'a pas d'action sur la cholinestérase, même à de fortes concentrations. Nous avons étudié le sulfate de sodium aux concentrations de 1/100 et 1/1000 sans constater de variation dans la scission enzymatique de l'acétylcholine. Matthes, même à des concentrations plus fortes, ne lui trouve pas d'effet. Il en est de même pour le sulfate de magnésium étudié par Kahane et Levy (1936).

Par contre les *hyposulfites* exercent une action nette sur la cholinestérase sérique de Cheval.

In vitro, l'*hyposulfite de sodium* provoque une accélération

de la lyse enzymatique de l'acétylcholine. Le maximum d'action s'atténue pour disparaître vers la 60ème minute, comme le montre la figure 20. Ces faits cadrent bien avec l'action pharmacologique de l'hyposulfite de Na, qui est immédiate mais fugace.

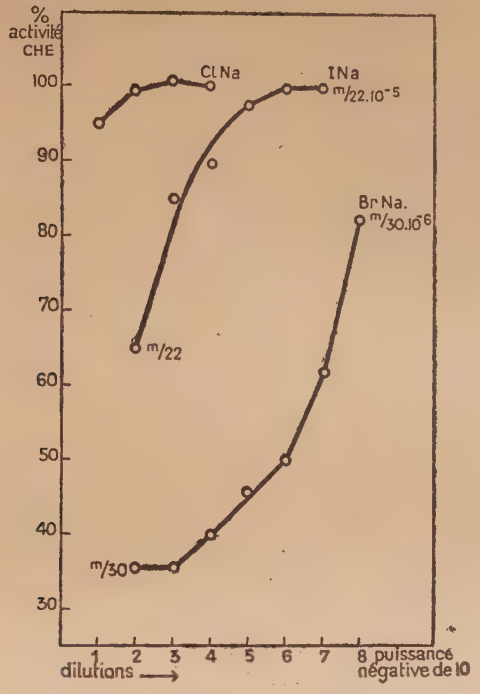


Fig. 21. — Actions des halogènes sur l'activité de la cholinestérase.

L'accélération obtenue est assez faible, d'ailleurs, puisqu'une concentration de 1/100 correspond à 122 % d'activité de la cholinestérase, et qu'à 1/100,000 cette accélération a disparu.

L'hyposulfite de calcium est également accélérateur, mais — fait particulier — l'optimum d'action n'est pas proportionnel à la concentration : il existe une dilution précise (1/100,000) où l'activation fermentaire est la plus marquée (130 %). A 1/10,000 ainsi qu'à 1/1,000,000 cette accélération n'est respectivement que de 120 et 115 %.

L'hyposulfite de Magnésium semble ne pas accélérer l'activité du ferment. Il est assez curieux de constater que l'association de deux activateurs, comme l'hyposulfite et le Mg, ne produit aucune accélération in vivo ou in vitro.

Arsénicaux. Sels étudiés : Arsénite de sodium : AsO^3HNa_2. P.M. 170.

Atoxyl : amino-phénylarsinate de sodium. 4 aq. P.M. 311,085; 24,12 % d'As.

Novarsénobenzol : dioxy-amino-arsénobenzol-méthylène-sulfoxylate de Na. P.M. 466, 10 ; 32,16 % d'As.

Storvasol sodique : m-acétylamino-p-oxyphénylarsinate monosodique. P.M. 275,048 ; 27,2 % d'As.

Les accidents salvarsaniques aigus rappellent, comme nous l'avons indiqué précédemment, ceux du choc acétylcholinique. Il n'est donc pas étonnant de voir que les composés arsénicaux inhibent la cholinestérase.

D'ailleurs, *l'atoxyl* fut un des premiers corps connus pour empêcher l'hydrolyse de l'acétylcholine. Matthes (1930) trouve que l'atoxyl à 1 % bloque cette hydrolyse de 25 %, mais qu'une solution à 1/1000 est déjà inactive. Pour Plattner et Hintner (1930), les cholinestérases des divers organes réagiraient différemment à cette drogue : alors que la cholinestérase de la thyroïde est atoxylorésistante, celle du foie de Chat se laisse déprimer de 54 %.

Ammon trouve une inhibition de force moyenne avec l'atoxyl à 2 mg/2 ccm de sérum.

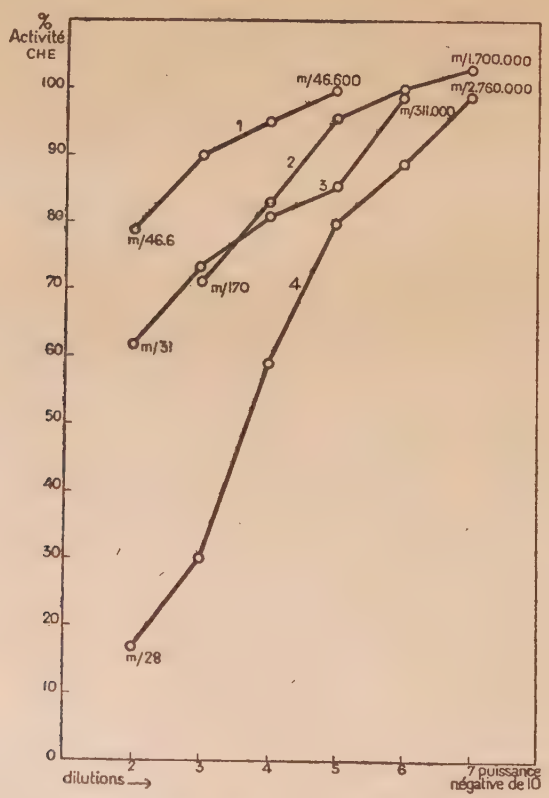


Fig. 22. — Les composés arsénicaux. As, trivalent : 1. Novarsénobenzol, 2. Arsénite de Na, 3. Atoxyl. — As, pentavalent : 4. Stovarsol sodique.

D'après Gautrelet et Scheiner (1939), le cacodylate de soude est inactif sur la cholinestérase. Il en serait de même pour le novarsénobenzol.

Nos expériences, illustrées par la figure 22, montrent que l'atoxyl inhibe la cholinestérase du sérum de Cheval de 39 % pour une solution à 1/100 (M/31) et que l'inhibition est nulle avec des dilutions dépassant 1/1,000,000 (M/311,000).

L'*arsénite de sodium* fut étudié pour la première fois par Massart et Dufait en 1939, qui trouvent que l'arsénite inhibe la cholinestérase de 90 % pour une concentration de M/50.

L'inhibition que nous avons obtenue est plus faible : 29 % pour M/170 et disparition de l'effet pour M/170,000 (voir fig. 22).

Le *novarsénobenzol* est, de tous les composés arsénicaux, l'inhibiteur le plus faible de la cholinestérase (22 % pour M/46,6), alors que le *stovarsol sodique* est de beaucoup le plus fort : 83 % pour M/27,5 et annulation de l'effet à partir de M/2,750,000 (voir fig. 22).

Nitrates. De même que les sulfates, les nitrates de Na restent sans action sur l'activité de la cholinestérase, qu'elle que soit la concentration.

Borate. Sel étudié : Borate de sodium. $B^4\,O^7\,Na_2$. 10 aq. P. 382.

Le borate est un inhibiteur de la cholinestérase, comme l'illustre la fig. 23. Une solution à 1/1000 (M/382) freine la cholin-

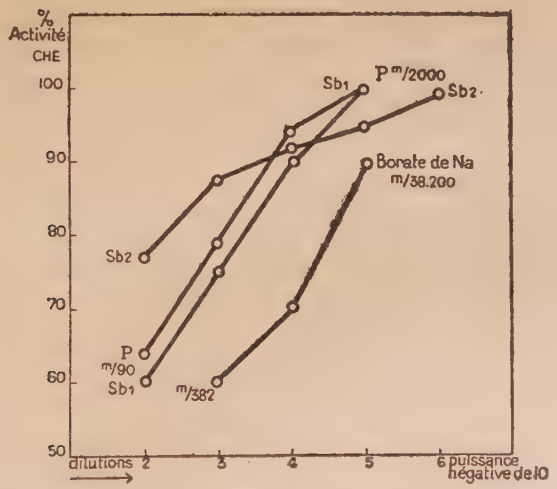


Fig. 23. — Antimoine (Sb_1 = tartrate double de Sb et K ; Sb_2 = tartrate double de Sb et Na) ; Borate de Na ; P = hypophosphite de Na.

estérase du sérum de Cheval de 40 % ; une solution à 1/10,000 (M/3820) inhibe de 30 %. Une solution de 1/100,000 ne baisse la scission enzymatique de l'acétylcholine que de 10 %.

Ions dérivés du *Phosphore*. Alors que nous avons utilisé l'huile phosphorée pour les intoxications chez le Cobaye, un sel hydrosoluble était nécessaire pour les expériences in vitro.

Les phosphates neutres sont sans activité sur la cholinestérase.

Les phosphates acides agissent en modifiant simplement le pH du milieu et par conséquent ralentissent légèrement l'hydrolyse fermentaire de l'acétylcholine.

Nous avons utilisé l'hypophosphite de sodium (PO_2H_2Na, P. M. 88) dont l'adjonction au sérum n'en change pas notablement le pH.

L'hypophosphite n'agit qu'à des concentrations assez fortes. Freinage de 36 % pour M/8,8 ; de 22 % pour M/88 ; de 6 % pour M/880. Pas d'action à partir d'une solution à 1/100,000 (soit M/8800, voir fig. 23).

Massart et Dufait (1939), travaillant sur une préparation purifiée, trouvent que les phosphates et les pyrophosphates inhibent l'activité de la cholinestérase. En particulier les pyrophosphates à la concentration de M/50 donneraient une inhibition allant jusqu'à 75 % de l'activité initiale.

Ions dérivés de l'*Antimoine*. Sels étudiés : tartrate double de Sb et de K ; tartrate double de Sb et de Na.

L'antimoine est connu pour ses propriétés antifermentaires en général. Son action serait même plus forte que celle de As trivalent. Il exerce une action inhibitrice sur la cholinestérase in vitro, comme le montre la fig. 23.

Pour le tartrate double d'antimoine et de sodium, l'effet inhibiteur commence à 1/100 (inhibition de 23 %) et disparaît avec des dilutions de 1/10 .

Pour le tartrate double de Sb et de K (émétique), cet effet s'étale entre les dilutions à 1/100 (—39 %) et 1/10 (disparition de l'inhibition).

La différence entre les deux composés stibiés réside dans le fait que le K est un inhibiteur assez fort, alors que le Na n'a pas d'effet sur la scission enzymatique de l'acétylcholine.

C'est une preuve indirecte de l'action du K sur la cholinestérase, qui vient s'ajouter à l'effet proproe de l'ion Sb—.

CATIONS

Ions H.

L'influence du pH sur l'activité de la cholinestérase a été largement étudiée par Glick et Kahane et Levy. Pour Galehr et Plattner (1928), la cholinestérase du sérum serait plus sensible que la cholinestérase globulaire aux variations du pH vers l'acide.

L'optimum se place entre 8,2 et 8,5, mais le rendement n'est pas très éloigné de l'optimum au pH de l'organisme.

Au delà de 9,0 et en deçà de 6,0, l'activité est fortement entravée et négligeable.

L'*Oxyde de Deutérium* (eau lourde) étudié par Bogdanowitch et Barbour (1938), puis par Barbour et Dickerson (1939), protège l'acétylcholine contre l'hydrolyse enzymatique et également contre sa scission spontanée. En effet, l'eau lourde potentialise l'action de l'acétylcholine, en freinant sa décomposition. Les auteurs apportent des preuves de cette affirmation par des méthodes biologiques (protection contre la destruction de l'acétylcholine par la cholinestérase des écailles de certains poissons ; effet analogue à l'ésérine) et chimiques (étude de l'inhibition de la cholinestérase suivie par un dosage électrométrique).

Cette inhibition, qui est proportionnellement la même pour l'hydrolyse enzymatique et spontanée, ne dépasse pas 30-40 % de la valeur de l'hydrolyse en présence d'eau distillée ordinaire.

Les alcalins.

Sodium. Il serait inactif, selon Kahane et Levy (1936). Nos expériences confirment également que le ClNa ne trouble pas la fonction de la cholinestérase, sauf à de très fortes concentrations : baisse d'activité de 5 % avec une concentration finale de 1/10e dans le sérum.

Potassium. Les rapports entre l'ACh, la CHE et l'ion K+ sont très étroits. Les taux de l'ACh et de l'ion K varient dans le même sens lors de la transmission nerveuse et musculaire. La contraction acétylcholinique du muscle entraîne une libération d'ions K dans le sang efférent. D'autre part, le potassium favorise les effets de l'ACh (Clark, 1927-28), et accélère la décomposition du complexe acétylcholinique (Mann, Tennenbaum et Quastel, 1940).

In vivo, chez l'Homme, Schaller (1942) a observé que la CHE des globules rouges subit des variations parallèles à celles du K sérique, en particulier chez les malades présentant des fluctuations de la CHE. L'ion Na+ subit des variations inverses.

Dans le sérum, les relations entre la CHE et le K sont différentes : Rumma et Sibul (1943) montrent que plus la CHE sérique des malades est basse, plus le rapport K/Ca est haut, et inversément.

In vitro, les effets du potassium sur la CHE sont variables. Kahane et Levy (1936) considèrent que le ClK est inactif. Nos recherches infirment cette constatation. En effet, le ClK freine la CHE de 23 % à la concentration de m/10. A partir de m/740, il devient inactif (voir fig. 24).

Récemment Glick (1941) a trouvé que les ions Na et K restent sans influence sur l'enzyme du sérum de Cheval, alors qu'ils *activent* la CHE sérique de Rat. C'est un exmple de plus de la différente réactivité des ferments d'origines diverses.

Lithium. Par contre le lithium (sel utilisé SO^4Li_2. 1 aq. P.M. 128) est un inhibiteur assez fort, comme on peut le voir sur la fig. 24 : 50 % d'inhibition à M/12 ; 30 % à M/128 ; 21 % à M/1280. L'action ne cesse qu'à une dilution à 1/10 millions soit M/1,280,000.

Ammonium. Sels utilisé : $ClNH^4$. P.M. 53.

L'adjonction de chlorure d'ammonium au sérum n'en modifie

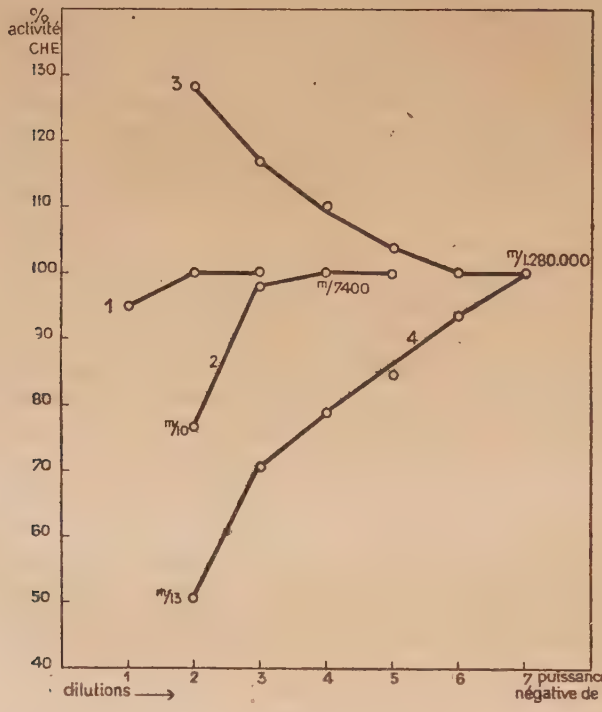


FIG. 24

Les métaux alcalins. 1 = ClNa ; 2 = ClK ; 3 = $ClNH^4$; 4 = SO^4Li^2.

que très légèrement le pH. Seule une solution à 1/100 baisse le pH du sérum de 0,2. Les autres solutions laissent le pH du sérum inchangé.

De tous les ions alcalins, l'ammonium est le seul accélérant de la cholinestérase. La fig. 24 montre que cette accélération, comme les inhibitions, est proportionnelle à la dilution.

Accélération de 28 % pour une solution à 1/100 ; inactivité à 1/1,000,000.

Les alcalino-terreux

Un grand nombre de travaux ont été consacrés à l'influence des ions Ca, Mg, Ba sur l'activité de la cholinestérase.

MATTHES en 1930, utilisant la méthode des solutions isotoni-

ques citée plus haut, constate que le $MgCl_2$, le $CaCl_2$ et le $BaCl_2$ diminuent la vitesse de destruction de l'acétylcholine respectivement de 13, 37,5 et 62 %. Mais lorsque ces solutions étaient étendues 10 fois avec du NaCl, elles n'avaient plus aucun effet.

Donc il faut de très fortes concentrations de ces ions pour obtenir des inhibitions.

C'est également l'avis de Kahane et Levy (1936) qui considèrent que pour obtenir la même inhibition de la cholinestérase par 1 gamma d'ésérine, il faut une concentration de 10 g de Cl_2Ca.

Par contre l'inhibition est beaucoup plus rapide avec les précipitants du Ca, comme l'oxalate ou le citrate.

Massart et Dufait (1939, considèrent que l'ion Ca^{++} est un activateur naturel de la cholinestérase. Ils expliquent que certains inhibiteurs comme le fluorure, les citrates et les oxalates n'agissent qu'en fixant le Ca (inhibition par le citrate : 60 % pour M/50 ; 30 % pour M/500).

Si on dialyse du sérum de Cheval contre une solution de bicarbonate, on fait perdre à la cholinestérase 40 % environ de son activité. On peut restaurer le pouvoir primitif au ferment en ajoutant au sérum dialysé des ions bivalents comme le Ca^{++}, le Mg^{++} ou le Mn^{++} à la concentration de M/500. Le Ba serait indifférent ainsi que le Cd ; le Co et le Cu seraient toxiques.

La réactivation par le Ca est déjà notable à la concentration de M/25,000 ; elle est totale pour M/500 et n'augmente pas pour M/50.

Une expérience analogue fut faite par Nachmansohn (1940) sur une préparation de cholinestérase extraite à partir de l'organe électrique de la Torpille. On rend le ferment inactif par dialyse prolongée, puis on peut constater que l'adjonction d'ions bivalents rétablit l'activité de la préparation, avec la hiérarchie suivante : Ba^{++} (Mg^{++} (Mn^{++}.

Les ions monovalents réactivent également la cholinestérase inactivée par la dialyse, mais seulement à de très hautes concentions (0,1 M).

De leur côté, Mendel, Mundell et Strelitz (1939), expérimentant selon la méthode d'Ammon sur une préparation de cholinestérase purifiée, libre d'électrolytes, extraite du sérum de Cheval, indiquent que les ions Ca et Mg agissent comme activateurs et l'ion K comme inhibiteur de la cholinestérase.

Selon ces auteurs, les effets de l'adjonction de Ca, K, Mg dépendent de la concentration de substrat : ils sont plus prononcés pour de faibles dilutions. Ainsi, pour une concentration d'acétylcholine à 0,5 %, l'activité de la cholinestérase est augmentée de 30 % par les ions Ca ou Mg et inhibée de 15 % par l'ion K.

Pour une concentration de 0,025 % d'acétylcholine, le Ca et le Mg augmentent l'activité de la cholinestérase de 100-150 % et l'ion K l'inhibe de 40 %.

L'inhibition du K est contrebalancée par le Ca ou le Mg : dans un milieu balancé, comme le Tyrode par exemple, une diminution d'ions Ca ou Mg a le même effet qu'une augmentation d'ions K.

Citons enfin l'article de Gautrelet et Scheiner (1939). Ils travaillent sur du sérum de Cheval. L'activité de la cholinestérase est mesurée par la vitesse de décontraction du muscle rectus abdominis de Grenouille contractée par l'acétylcholine à dose fixe, que l'on traite par une quantité donnée de sérum auquel on a ajouté divers inhibiteurs.

Pour ces auteurs, ni le $CaCl_2$, ni l'oxalate de Na n'influencent l'activité de la cholinestérase.

Nous avons repris par notre méthode l'étude de tous ces ions, travaillant sur la cholinestérase non purifiée du sérum sanguin.

Calcium. Nous avons étudié le Cl_2Ca. 6 aq. P.M. 219., le gluconate de Ca. P.M. 448,26, l'hyposulfite de Ca. P.M. 152. Le Cl_2Ca, comme on peut le voir sur la figure 25, est un activateur de la cholinestérase. Cette activation varie entre + 6 et + 18 %.

Il en est de même pour l'hypofulfite de Ca, qui est un activateur un peu plus fort (+ 12 à + 30 %).

Pour ces deux corps, l'activation n'est pas proportionnelle à la dilution. Elle présente un optimum pour une concentration donnée, différente pour les deux substances (voir fig. 25).

Cette activation de la CHE par le Cl_2Ca a été également constatée par Punt (1942), par une méthode biologique.

Le *galacto-gluconate de Ca* est, de tous les composés calciques, celui qui donne l'activation la plus régulière, comme le montre la fig. 25. Mais pour cette action il demande des doses extrêmement fortes.

Magnésium. Pour Kahane et Levy (1936), le SO^4 Mg n'exerce aucune influence sur la cholinestérase in vitro. Nos expériences (fig. 25) font constater une légère accélération de l'activité hydrolytique de l'acétylcholine par le sérum de Cheval.

Une concentration de M/20 active la cholinestérase de 15 %, puis cette activation diminue avec les dilutions progressives pour disparaître avec M/20,000.

Par contre, l'hyposulfite de Mg n'exerce aucune action inhibitrice ou activatrice sur la cholinestérase.

Le Mg est également antagoniste des effets contracturants du Ba sur le muscle de Sangsue.

Baryum. Une grande discordance de vues existe entre les divers auteurs en ce qui concerne l'action de ce métal sur la CHE. Matthes (1930) trouve que le Ba inhibe l'enzyme ; pour Nachmansohn (1940), il l'activerait.

Nos expériences sur la CHE intacte de sérum de Cheval,

montrent que le $BaCl_2$ exerce une action indiscutablement inhibitrice et cela jusqu'à de très fortes dilutions.

Ainsi, comme l'illustre la fig. 25, une solution de 1/100 de Cl_2Ba inhibe la CHE de 33 % et une solution de 1/10 millions est encore freinatrice de 5 %. Le Ba ne devient inactif sur la CHE qu'au dessous de 1/100 millions, soit m/24.000.000.

Cette action inhibitrice des sels de Ba présente un certain intérêt théorique. En effet, il est possible d'admettre que les contractures des réactifs biologiques de l'ACh que provoque le Ba soient simplement dues à l'inhibition de la CHE de ces organes et à la sensibilisation de ceux-ci à l'ACh endogène.

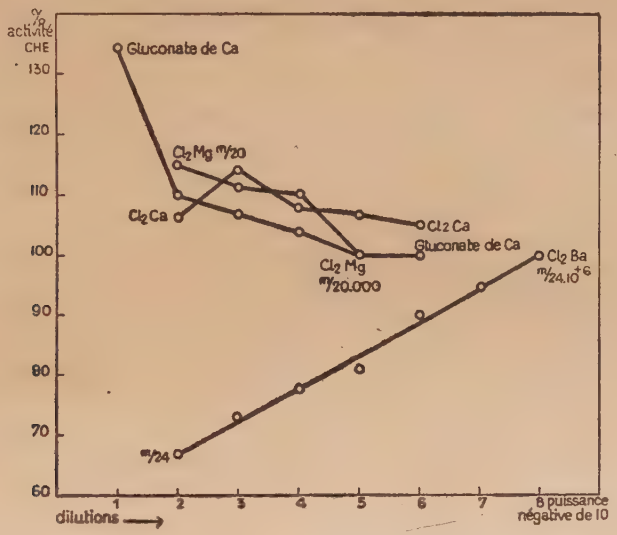


Fig. 25. — Les métaux alcalino-terreux.

Contrairement aux idées de Feng (1941), il est plus que probable que la sensibilisation du muscle de Grenouille à l'ACh soit due à une action « ésérine-like » du Baryum.

Métaux lourds

Les métaux lourds sont en général des inhibiteurs des fermentations. La cholinestérase n'échappe pas à cette action.

Or. Nous avons utilisé dans nos recherches : le chlorure d'or : $AuCl^3$. 2 aq. P.M. 339,5.

Deux sels employés en chrysothérapie : le Solganal (4-amino-méthylènesulfonate de sodium-2-auro-thiophenol-1-sulfonate de sodium) ; P.M. 540 ; 36 % d'Au et la Crisalbine (thiosulfate d'or et de Sodium (S_2O^3) $^3AuNa_2$ 2 aq. P.M. 526,5 ; 37,5 % Au et 24,34 % S.

Comme l'on peut voir sur la fig. 26, les trois corps étudiés ont à peu près le même pouvoir inhibiteur in vitro sur la cholinestérase du sérum de Cheval. Cette inhibition varie entre 30 et 40 % pour des solutions à 1/100 et entre 10 et 20 % pour les solutions à 1/1.000. L'inhibition cesse en général vers les concentrations de 1/10 à 1/100.000.

Argent. L'argent est plus fort inhibiteur de la cholinestérase

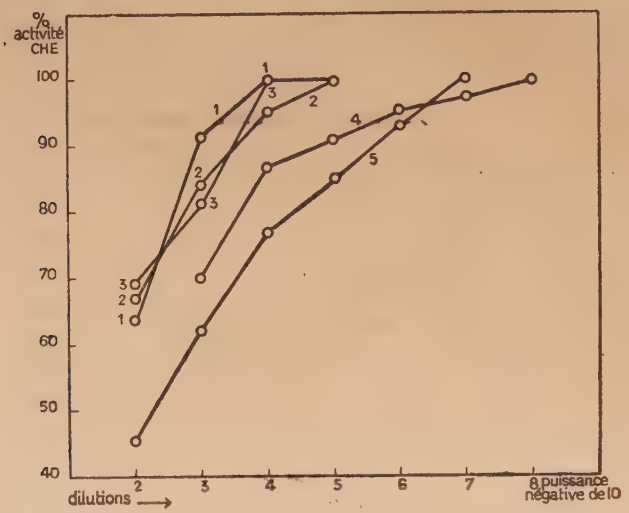


Fig. 26

Or et Argent (1 = Chlorure d'Or ; 2 = Solganal ; 3 = Crisalbine ; 4 = Nitrate d'argent ; 5 = Protéinate d'argent).

que l'or. En comparant ces actions respectives sur la fig.26, on voit que l'inhibition, pour des solutions à 1/100 atteint 55 % et que les sels d'argent conservent une activité inhibitrice certaine avec des dilutions atteignant 1/10 millions (M/1.700.000). Le protéinate d'argent semble être un meilleur inhibiteur que le NO^3Ag.

Plomb. Nous avons utilisé comme sel de plomb, l'acétate de Pb-triéthyle, qui depuis E. Harnack est le composé de Pb le plus utilisé en toxicologie. Cela parce que ce composé n'a aucune action nécrosante, qu'il ne précipite pas les albumines, qu'il est soluble dans l'eau et qu'enfin il est complètement décomposé dans l'organisme, libérant l'ion Pb. On obtient ainsi des phénomènes d'intoxication par ce métal, dans leur pureté absolue.

Dans nos expériences avec le sérum de Cheval (fig. 27), nous avons pu constater une forte inhibition de la cholinestérase par ce composé de plomb. Avec une dilution de 1/10.000 il y a une perte d'activité de 75 %. Cette activité diminue graduellement avec les dilutions, pour disparaître avec une concentration de 1/100 millions.

Cuivre. Sel utilisé : SO^4 Cu. 5 aq. P.M. 249,7.

L'étude de l'ion Cu a déjà été entreprise par NACHMANSOHN et LEDERER (1939 a, b). Ces auteurs ont trouvé, qu'après une incubation de 3 heures, le Cu à la dilution de M/6350 inhibe de 45 % une préparation purifiée de cholinestérase.

Nos expériences donnent des résultats analogues. Inhnbition, après 30 minutes de contact, de 27 % pour une dilution de 1/1.000 (M/250) ; disparition de l'inhibition avec une dilution à 1/100.000 (voir fig. 27).

Les résultats quantitatifs différents entre ces auteurs et nous-même sont probablement dûs aux différences du temps de contact et à celles des préparations fermentaires, car ces auteurs travaillent sur une cholinestérase extraite de l'organe électrique de la Torpille et hautement purifiée.

Mercure. Sel utilisé : Cl_2Hg. P.M. 271.

Le Hg est considéré comme un des plus puissants inhibiteurs des ferments en général ; il ne fait pas exception pour la cholin-

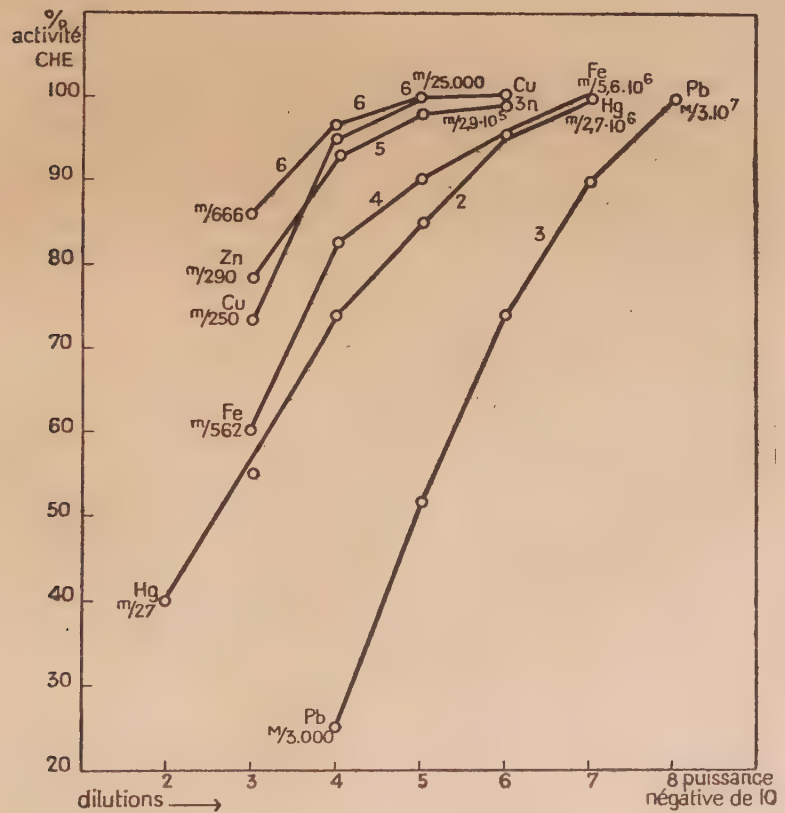


FIG. 27

1 = sulfate de Cu ; 2 = Chlorure de Hg ; 3 = Acétate de Pb-triéthyle ; 4 = Sulfate de Fer ; 5 = Sulfate de Zn ; 6 = Sulfate d'Al.

estérase, quoique nos résultats expérimentaux montrent que cette inhibition ne se classe pas parmi les plus importantes. Comme l'indique la fig. 27, l'inhibition maximum obtenue fut de 60 % pour une concentration de 1/100 (M/27). Diminuant avec les dilutions croissantes, cette inhibition disparaît à 1/10 millions (M/2.710.000).

Des expériences parallèles avec un sel organique de mercure (le borate de phénylhydrargyre) donnèrent des résultats un peu plus prononcés (60 % pour une dilution de 1/10.000), mais pour ce composé, nous devons admettre une addition des effets du Hg avec ceux du borate, dont nous avons déjà indiqué l'action inhibitrice sur la cholinestérase.

Métaux divers

Aluminium. Sel étudié : $Al_2(SO^4)^3$. 18 aq. P.M. 666.

L'aluminium se révèle comme un très léger inhibiteur de l'activité de la cholinestérase de Cheval in vitro. Cette activité est freinée de 14 % pour une solution de 1/1.000 (M/666) et reprend son taux initial avec des solutions à 1/100.000 (voir fig. 27).

Il faut noter cependant que si l'on étudie l'action de ce métal en fonction du temps, l'inhibition augmente avec le temps de contact et après 1 h. à 1 h. 1/2, elle atteint 30 % environ et reste stable pendant au moins 24 h.

Zinc. Sel utilisé : SO^4Zn. 7 aq. P.M. 287.

Le sulfate de zinc exerce une inhibition de force moyenne sur l'activité de la cholinestérase. Une dilution à M/287.000 freine ce ferment de 22 % et l'inhibition s'annule vers les dilutions dépassant M/287.000 (voir fig. 27).

Nickel. Sel utilisé : acétate de Ni. P.M. 177.

L'action du Ni sur la cholinestérase est extrêmement variable. Si l'on étudie cette action en fonction du emps, on assiste à une suite d'inhibitions et d'activaions peu marquées, oscillant autour de la normale. L'effet d'accélération le plus net se fait avec une concentration de 1/1.000, (M/177) entre la 50e et la 105e minute. Vers la 90e minute, on peut, en effet, observer une activation de la cholinestérase de 25 % environ. Mais cette activation est précédée et suivie par des phases d'inhibition de même importance. Avec des dilutions plus fortes : 1/10.000, 1/100.000 ou 1/1 million, les courbes sont de moins en moins accidentées, sans qu'une systématisation soit possible à première vue.

Fer. Sel utilisé : $Fe_2(SO^4)^3$. 9 aq. P.M. 562.

Comme on peut le voir sur la fig. 27, le fer est également un inhibiteur de la cholinestérase du sérum de Cheval. L'inhibition est de 40 % à la dilution de 1/1.000 ; de 17 % à 1/10.000 ; de 10 % à 1/100.000 ; de 5 % à 1/1 million et inactif à 1/10 millions.

Cobalt. Le chlorure jaune de Cobalt diminue l'activité de l'ACh sur le muscle de Grenouille. Punt (1942) conclut que cet effet est dû à une activation de la CHE du muscle par le Cobalt. Par contre, pour Massart et Dufait (1939), le Cobalt serait, comme le Cuivre, un inhibiteur de la CHE dialysée.

Pour ces auteurs également, le *Cadmium* n'aurait aucune action sur la CHE.

Manganèse. Sel utilisé : Cl_2Mn. P.M. 125,9.

Nachmansohn a montré en 1940, que l'ion Mn++ est un réactivateur très puissant de la cholinestérase inactivée par dialyse prolongée. Travaillant sur la CHE intacte du sérum de Cheval, nous avons au contraire constaté que le Mn++ se classe parmi les ions sans activité marquée sur la cholinestérase normale. A fortes concentrations, il freine très légèrement (8-10 %) le fonctionnement de ce ferment.

Si l'on réunit toutes ces données expérimentales, on peut constater que rares sont les ions dont le mélange au sérum ne modifie pas l'activité de la cholinestérase sérique.

La plupart exercent un effet inhibiteur, parfois assez marqué pour arriver à diminuer l'action fermentaire de plus de 80 %. Aucun cependant ne possède le pouvoir anti-cholinestérasique aussi puissant que l'ésérine. D'autre part aucun ne présente la spécificité d'action de l'ésérine.

Enfin, un groupe plus petit d'ions possède les propriétés activatrices de la cholinestérase. Dans ce groupe entrent la plupart des médicaments ioniques dits « désensibilisants ».

DISCUSSION DES RESULTATS

Nos résultats concordent dans l'ensemble avec ceux des auteurs qui ont étudié les ions inorganiques. Cependant, certaines divergences se font jour, en particulier en ce qui concerne le travail de Matthes ; mais comme les méthodes de cet auteur et les nôtres sont fort dissemblables, que les concentrations, les temps de contact et les modes de dosage sont entièrement différents, nous croyons que la cause des résultats discordants est une question de technique.

En ce qui concerne les différences *quantitatives*, entre les résultats des auteurs cités (Nachmansohn et Lederer, Massart et Dufait) et les nôtres, il faut faire remarquer que les sources de ferment étaient différentes : ces auteurs ont travaillé avec des préparations purifiées et concentrées de cholinestérase, alors que nous avons utilisé la cholinestérase brute du sérum.

Or, Easson et Stedman, par des expériences d'ultrafiltration, ont pu prouver qu'une partie de l'inhibiteur ajouté ne se lie pas au ferment, mais reste dispersée dans le milieu. Les albu-

mines banales (non cholinestérasiques) de sérum doivent fixer une bonne partie des ions que nous avons ajoutés au ferment. Ce n'est donc qu'une fraction, peut-être assez faible, de l'inhibiteur mis dans la réaction (fraction que nous ne pouvons déterminer) qui se lie au ferment et l'inactive.

Mécanisme de l'inhibition

L'inhibition d'un ferment peut être obtenue par de nombreux mécanismes. Nous en envisagerons sucessivement les plus importants.

a) *Inhibition par compétition de substrat.* En général, il s'agit d'inhibiteurs spécifiques dont l'affinité pour le ferment est plus forte que celle du substrat naturel. Ainsi, pour la cholinestérase, de nombreux auteurs ont montré que l'ésérine présente une affinité bien plus grande que l'acétylcholine (Easson et Stedman, Rœpke, etc.).

L'inhibiteur est également décomposé par l'enzyme mais beaucoup plus lentement que le substrat. C'est le rôle que jouent l'ésérine et les uréthanes synthétiques étudiés par Stedman, puis par Aeschlimann et Reinert (Miotine, Prostigmine), vis-à-vis du couple cholinestérase-acétylcholine.

Pour obtenir une inhibition par compétition de substrat, il faut donc que l'inhibiteur ait une structure active proche de celle du substrat naturel, ou du moins qu'il présente des fractions de la molécule identiques ou analogues à celui-ci (Kahane et Levy, 1937).

Dans nos études sur les ions inorganiques, il est difficile d'imaginer que l'inhibition soit obtenue par un remplacement de l'acétylcholine par les ions étudiés sur les récepteurs du ferment.

La perturbation de l'activité de la cholinestérase que nous avons provoquée n'est donc, a priori, pas due à une inhibition compétive.

D'ailleurs, c'est précisément à cette conclusion qu'arrive Rœpke (1937) en étudiant l'inhibition obtenue par l'iodure ou le bromure de sodium.

b) Un autre mode d'inhibition peut être envisagé : c'est celui de la *neutralisation des activateurs* physiologiques :

Massart et Dufait ont ainsi montré que le calcium représente un de ces activateurs naturels. Nachmansohn a étendu étendu cette notion à d'autres cations bivalents.

En fait, nous constatons que les fixateurs du calcium comme l'oxalate de sodium, le citrate de sodium, le FNa sont tous des inhibiteurs de la cholinestérase. Une adjonction équimoléculaire de Ca++ rétablit la fonction initiale du ferment. Mais si l'inhibition obtenue par l'oxalate ou le citrate est de la même grandeur et peut expliquer leur action par la seule fixation du Ca++

activateur, le fluorure donne une inhibition presque totale, dépassant largement celle que l'on peut obtenir en enlevant le calcium de la préparation par dialyse prolongée.

D'autre part, comme l'ont montré NACHMANSOHN et LEDERER, il existe d'autres éléments chimiques dont l'intégrité est indispensable au bon fonctionnement de la cholinestérase. C'est entre autres le groupement SH-. Ces auteurs ont pu prouver que le blocage de ce groupement par l'iode, le cuivre, l'alloxane, l'acide maléique, etc., inhibait profondément la cholinestérase.

C'est là un deuxième point d'attaque des ions que nous avons étudié et dont il faut tenir compte.

c) Une autre possibilité est indiquée dans le travail de RŒPKE et WELCH (1936).

Les études de HUNT et RENSHAW (1926 ; 1928) sur la bétaïne et se esters donnent des preuves certaines que les substances « choline-like » doivent fournir des ions positivement chargés en solution à pH physiologique pour exercer une action pharmaco-dynamique.

La bétaïne, qui est électriquement neutre à ce pH, n'a pas d'action biologique, alors que ses esters, qui fournissent des cations en solutions aqueuses, possèdent l'activité pharmacologique de la choline. Ce fait suggère que l'union entre ces drogues et les substances cellulaires sur lesquelles elles se fixent (« receptor substances ») possède un caractère ionique analogue aux sels ; il y a probablement un remplacement des ions Na, Ca ou K de certains protéinates cellulaires, par des corps choliniques. Il est tout à fait admissible que la liaison entre la cholinestérase et l'acétylcholine se fasse suivant le même modèle, la cholinestérase présentant une affinité spéciale pour les esters de la choline. On pourrait ainsi supposer un échange de cations entre la cholinestérase et l'acétylcholine, l'enzyme jouant le rôle d'anion.

Ces faits cadrent bien avec les notions généralement admises :

1° Que la réaction cholinestérase-acétylcholine possède l'allure d'une réaction monomoléculaire ;

2° qu'il existe une relation linéaire entre la réponse du réactif biologique et la quantité de substance réceptrice (ou fermentaire) combinée avec la drogue ;

3° que la présence de cations bivalents est nécessaire pour l'activation physiologique de la cholinestérase.

On comprend aisément que la présence d'ions nouveaux puisse changer en plus ou en moins l'activité de la cholinestérase.

d) Une dernière hypothèse est encore permise : celle de la fixation des ions inorganiques sur une autre partie de la molécule fermentaire que celle qui entre en liaison avec le substrat. Et cette fixation de l'ion sur le ferment rendrait le fonctionnement de la cholinestérase, c'est-à-dire la liaison cholinestérase-acétylcholine, plus malaisée ou au contraire plus facile, lorsqu'il y a activation.

Ce mécanisme expliquerait en même temps les *degrès différents* d'inhibition ou d'activation obtenus avec différentes concentrations.

Une expérience complémentaire que nous avons faite parle en faveur de cette idée.

Si l'on mélange du sérum avec un inhibiteur (nitrate d'argent ou arsénite de sodium) et que l'on dialyse ensuite le mélange à travers une membrane de collodion contre de l'eau distillée, on ne peut révéler de trace d'inhibiteur dans le dialysat. D'autre part, l'activité du sérum est la même que celle du sérum mélangé à la même proportion d'inhibiteur et qui n'a pas été soumis à la dialyse (sérum témoin).

A notre avis, cette expérience montre que la liaison entre le ferment et l'ion inhibiteur se fait par fixation de celui-ci sur la molécule enzymatique. Cette liaison serait suffisamment solide pour résister à la dialyse prolongée pendant 36 heures.

Cette liaison serait particulière aux ions, car d'autres inhibiteurs peuvent être séparés du ferment par dialyse. Ainsi Schar-Wuthrich a réussi par ce procédé à rompre la liaison entre la cholinestérase et les inhibiteurs du type imidazol.

Comment agit cette fixation ? Nous ne saurions trop nous prononcer, car il est aussi possible que l'on provoque une certaine dénaturation irréversible des albumines du ferment, ou que les albumines fixant l'ion puissent à la longue s'en détacher et reprendre leur activité première. C'est le cas, par exemple, pour les sels instables d'or (sanocrysine) qui, comme nous l'avons montré sur la fig. 20, ne donnent que des inhibitions passagères ne durant que quelques heures.

Si nous voulons tirer des conclusions de toutes ces données théoriques, nous pensons qu'il n'existe pas de mécanisme général et unique pour l'action des ions organiques sur la cholinestérase. Chaque ion a un mécanisme qui lui est propre, bloquant un activateur naturel comme le Ca^{++}, inactivant un groupe important comme le SH-, ou enfin se fixant sur le porteur albuminique du ferment, comme c'est probablement le cas pour les métaux lourds.

Il est ailleurs possible que certains ions aïent des mécanismes d'action multiples avec plusieurs points d'attaque à la fois.

2. Action des divers ions sur la contracture acétylcholinique du muscle de Sangsue non ésériné

Nous venons de montrer l'action des divers ions sur la CHE du sérum de Cheval in vitro. Nous avons voulu savoir si les inhibitions et les activations observées avaient une signification physiologique, c'est-à-dire, si l'action de l'ACh sur les substrats contractiles était modifiée par la présence de ces ions.

A cette fin nous avons exploré la sensibilité à l'ACh du muscle de Sangsue non ésériné traité par divers ions inorganiques.

Nous savons combien cette étude est relative ; pour l'instant il est difficile de connaître, dans la sensibilisation obtenue, la part de l'inhibition de la CHE et celle de l'effet direct sur le muscle. Toutefois, cette recherche nous apporte, sinon une preuve absolue, du moins une confirmation assez large des résultats obtenus in vitro par des méthodes bio-chimiques.

La technique de l'expérience est fort simple : nous utilisons la préparation classique du muscle dorsal antérieur de la Sangsue, mais au lieu de sensibiliser par l'ésérine, nous soumettons ce muscle, après étalonnage de sa réactivité à l'ACh avant sensibilisation, à l'action d'un ion, pendant 45 minutes en moyenne. Puis nous ajoutons au bain de perfusion la concentration-étalon d'ACh et nous comparons les contractions obtenues.

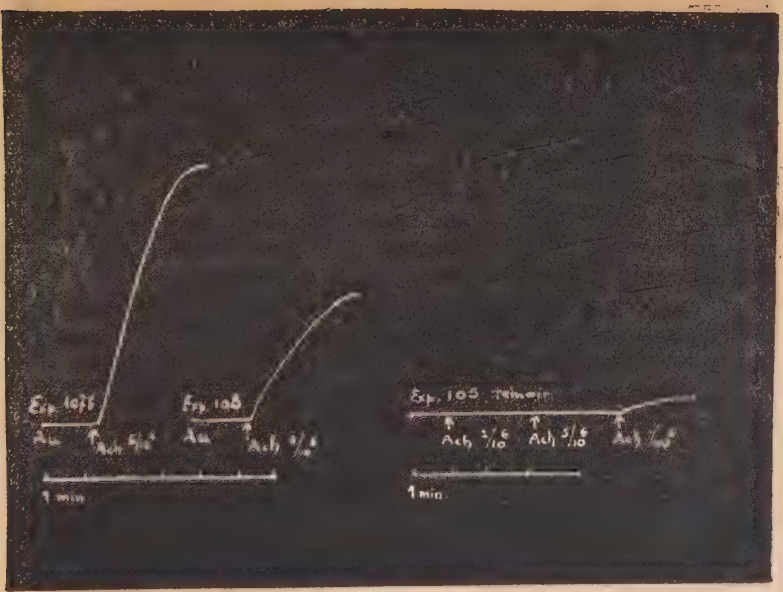


Fig. 28. — Sensibilisation du muscle de Sangsue non ésériné par les sels d'or. Exp. 107 b : ACh. 1/200.000 ; exp. 108 : ACh. 1/500.000 ; exp. 105 ; témoin avant sensibilisation. Successivement : ACh à 1/500.000, à 1/200.000, à 1/100.000.

OR : Si l'on traite un muscle de Sangsue non ésériné par une solution de thiosulfate d'Au à 1/100.000 (nous avons également employé le Cl^3Au), on observe que sa réactivité envers l'ACh, est très fortement augmentée : alors que le seuil de contraction du muscle non traité se situait à 1/100.000 d'ACh on obtient après traitement par l'or, une belle contraction avec une dilution de 1/500.000 d'ACh. (Fig. 28). Cette contraction est environ 7 fois plus ample que la contraction témoin.

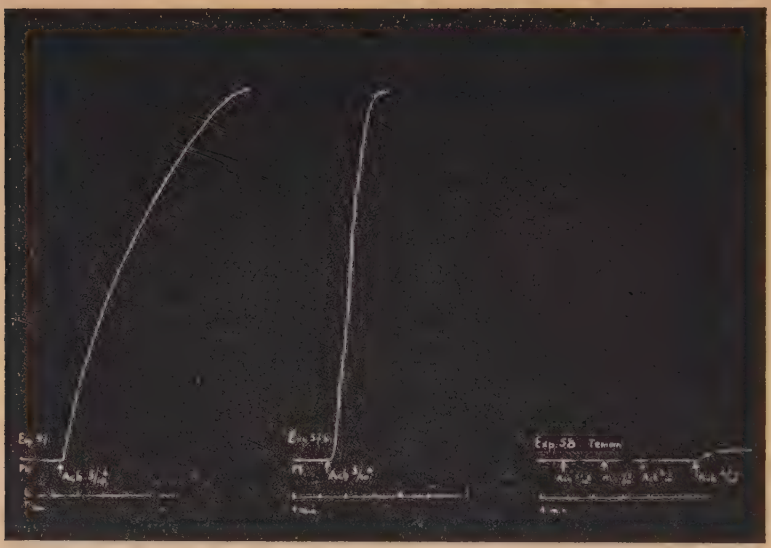


Fig. 29. — Sensibilisation du muscle de Sangsue non ésériné par les sels de Pb. Exp. 57 : ACh. 1 /200.000 ; exp. : 57 *bis* : 1 /200.000 ; exp. : 58 : témoin avant sensibilisation. ACh à concentrations croissantes : 1 /200.000, 1 /100.000, 1 /50.000 et 1 /25.000.

PLOMB : L'expérience est encore plus manifeste avec le Pb (fig. 29). Le muscle dont la réactivité est illustrée par cette figure, était particulièrement peu sensible à l'ACh (dose seuil : 1/25.000). Après traitement par une concentration de $1/10^6$ de Pb-triéthyle, le muscle réagit à une dose de 1/200.000 d'ACh par une contraction 25 à 30 fois plus haute que celle obtenue par la dose-seuil d'ACh.

ARSENIC : La figure 30 montre que le Novarsénobenzol (1/5.000) sensibilise modérément le muscle de Sangsue non ésériné à l'action de l'ACh (Dose-seuil avant sensibilisation : $1/10^6$; après sensibilisation : contraction 8 à 9 fois plus forte avec $2/10^6$).

Nous avons également étudié l'action d'autres ions :

MERCURE (sublimé à 1/100.000), *ARGENT* (vitellinate d'Ag à 1/500.000) ne donnent pas de sensibilisations aussi manifestes que les ions précédents.

CUIVRE (acétate de Cu,1/25.000) et *ANTIMOINE* (tartrate double de Sb et Na à 1/25.000) donnent des sensibilisations nettes mais faibles.

ALUMINIUM : Alors que ce métal est un faible inhibitelur in vitro, il sensibilise fortement le muscle de Sangsue non ésériné à l'action de l'ACh. Une solution de 1/100.000 de sulfate d'Al produit une contraction du muscle avec 10^{-6} d'ACh ; 10 fois plus forte que celle que l'on obtient avant la sensibilisation par l'ACh à 1/200.000.

Le *ZINC* (sulfate de Zn à 1/2.500) est également un potentialisateur de l'action acétylcholinique sur ce muscle.

La sensibilisation obtenue est-elle uniquement due à l'inhibition de la CHE du muscle par les divers ions ?

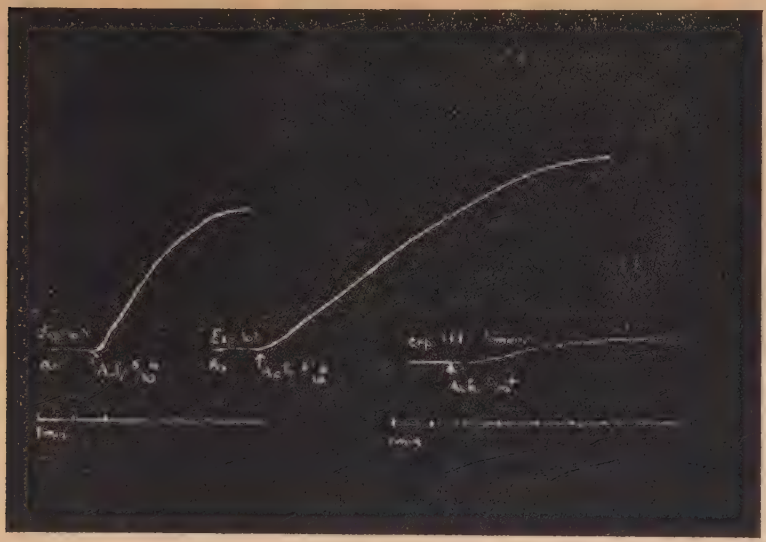


FIG. 30. — Sensibilisation du muscle de Sangsue non ésériné par le novarsénobenzol. Exp. 103 : ACh. 1 /200.000 ; exp. 101 : ACh. 1 /500.000 : exp. 111 : témoin avant sensibilisation. ACh. 1 /200.000.

Cela est probable mais non certain. En effet, il existe une différence entre les diverses sensibilisations obtenues et les pouvoirs anti-cholinestérasiques des ions. D'autres facteurs doivent intervenir certainement dans la genèse de ces sensibilisations.

3. Effets des inhibiteurs et des activateurs ioniques sur la cholinestérase de l'hémolymphe d'Escargot

Pour examiner la généralité des constatations précédentes, nous nous sommes adressé à une CHE d'invertébré. Comme source de ce ferment nous avons choisi l'hémolymphe de l'Escargot de Bourgogne (Helix pomatia), dont le pouvoir hydrolytique de l'acétylcholine est assez élevé. Nous avons testé l'activité de la CHE de cette hémolymphe par la méthode de HALL et LUCAS : son pouvoir moyen de saponification à 22° C (température moyenne de nos expériences) correspond à 2,85 cc de NaOH n/100 en 20 minutes. Rappelons pour mémoire que celui du sérum de Cheval est de 4 cc en moyenne et celui du sérum de Cobaye varie entre 2,5 et 3,5 cc. (Essai avec 1/2 cc de sérum ou l'hémolymphe. Dilution 1:20).

L'hémolymphe d'Escargot contient donc une CHE très active.

Organe réactif : le cœur d'Escargot isolé. Cet organe est extrêmement sensible à l'action inotrope et chronotrope négatives de l'ACh : une concentration de 1/25 millions de cette hormone ralentit ou arrête passagèrement les contractions cardiaques. L'ACh dilué de 1/1.000.000 à 1/250.000, suivant la sensibilité individuelle des cœurs, immobilise ceux-ci pour au moins 12-15 minutes, le temps de la scission non enzymatique de l'ACh, car le myocarde de l'Escargot est fort pauvre en CHE. Par contre, si l'on ajoute à la solution dans laquelle baigne le cœur arrêté par l'ACh une certaine quantité d'hémolymphe, qui contient de la CHE, comme nous l'avons vu, l'ACh est plus ou moins rapidement saponifiée (inactivée) et le cœur se remet à battre.

Nous avons imaginé de mesurer l'activité de la CHE de l'hémolymphe, en comptant le temps de reprise des battements cardiaques arrêtés par une dose fixe de l'ACh, après adjonction d'une quantité donnée d'hémolymphe.

En soumettant ensuite cette hémolymphe, ainsi étalonnée, à l'action d'un activateur ou d'un inhibiteur de la CHE, on retarde ou on accélère la reprise cardiaque.

Ces faits sont très précis, la même quantité d'hémolymphe scindant la même dose d'ACh en un temps identique. Le temps est diminué de moitié si l'on double la quantité d'hémolymphe ou si l'on ne met que la demi-dose d'ACh.

Vu la constance de ces réactions, les résultats peuvent être exprimés en % d'activation ou d'inhibition.

Technique : Le premier temps de l'expérience consiste à *étalonner* le cœur, c'est-à-dire à trouver la dose d'ACh qui arrête le cœur pendant au moins 10 à 12 minutes. Cette dose varie en général de 1 à 4 gammas d'ACh par cc, soit des dilutions

allant de 1/1.000.000 à 1/250.000. Cet étalonnage effectué, on lave le cœur, puis on ajoute la quantité choisie d'ACh. Après une minute d'arrêt on verse dans le bain de perfusion une quantité donnée (1/4 à 1/2 cc) d'hémolymphe fraîche d'Escargot. La reprise des battements cardiaques se fait en 2 à 3 minutes.

C'est ce que nous appelons *l'essai témoin*, (fig. 31, courbes 1 et 2).

Fig. 31. — Inhibition de la ChE par ClK. Courbe 1 et 2 : étalonnage. Courbe 3 : KCl à 0,1 %. Courbe 4 : KCl à 0,01 %.

Dès lors, et pendant toute la durée de l'expérience, les quantités choisies d'ACh et d'hémolymphe resteront fixes.

Un deuxième temps de l'essai consiste à mettre en contact, à la température de la chambre, la quantité efficace d'hémolymphe avec un agent modificateur de la CHE, à des dilutions différentes, pendant 15 à 30 minutes.

Puis on arrête de nouveau le cœur par la quantité choisie d'ACh et on ajoute l'hémolymphe traitée. On compare alors la vitesse de reprise des battements cardiaques avec celle obtenue dans l'essai témoin. On constate alors une accélération ou un retard de cette reprise, qui mesure l'activation ou l'inhibition de la CHE de l'hémolymphe d'Escargot.

Les résultats expérimentaux correspondent à ceux que nous avons pu constater pour la CHE du sérum des Mammifères.

Dose de l'ACh	Quantité d'hémolymphe	Reprise en (tém.)	Étalonnage	Agents modificateurs	Concentration	Contact avec hémolymphe	Reprise en :	%
1.10^{-6}	¼ cc.	90″	360″	Au (Sanocrysine)	1/200	30′	195″	—76 %
					1/20.000	30′	175″	—68 %
					1/200.000	30′	195″	—76 %
1.10^{-6}	½ cc.	150″	600″	As (914)	1/100	15′	510″	—95 %
					1/10.000	15′	510″	—95 %
2.10^{-6}	¼ cc.	43″	480″	Pb (acétate de tréthyle)	1/1.000	15′	300″	—90 %
2.10^{-6}	¼ cc.	120″	600″	$So^{4}Zn$	1/2.000	12′	180″	—10 %
					1/10.000	15′	120″	0
8.10^{-6}	¼ cc.	165″	600″	Borax	1/2.000	30′	195″	—18 %
2.10^{-6}	¼ cc.	120″	530″	$MgCl_2$ (fig. 32)	1/2.000	15′	78″	+40 %
					1/10.000	15′	72″	+43 %
					1/100.000	15′	100″	+18 %
1.10^{-5}	¼ cc.	105″	360″	$HgCl_2$ (fig. 33)	1/1.000	40′	180″	—27 %
					1/10.000	35′	130″	—13 %
1.10^{-5}	¼ cc.	105″	360″	Hg organique (Merfen)	1/1.000	40′	360″	—90 %
4.10^{-6}	¼ cc.	90″	400″	Hyposulfite de Na (fig. 34)	1/20.000	10′	70″	+18 %
1.10^{-6}	¼ cc.	155″	600″	$CaCl_2$	1/200	15′	118″	+20 %
					1/2.000	15′	100″	+30 %
					1/20.000	15′	95″	+33 %
					1/200.000	15′	118″	+20 %
1.10^{-6}	¼ cc.	80″	600″	KCl (fig. 31)	1/2.000	15′	195″	—25 %
					1/20.000	15′	133″	—12 %
4.10^{-6}	¼ cc.	90″	600″	Tartrate de K et Sb	1/100	15′	505″	—93 %
					1/1.000	15′	255″	—48 %
					1/100.000	15′	435″	—78 %
4.10^{-6}	¼ cc.	83″	285″	$SO^{4}Cu$ (fig. 35)	1/1.000 (précipité)	15′	pas de reprise	
					1/10.000	15′	150″	—66 %
					1/100.000	15′	160″	—72 %
2.10^{-6}	¼ cc.	55″	600″	Hypophosphite de Na (fig. 36)	1/1.000	15′	75″	— 5 %
					1/10.000	15′	225″	—48 %
					1/100.000	15′	460″	—85 %

N. B. — Les % d'inhibition sont calculés par rapport au temps d'étalonnage dont on déduit les chiffres de l'essai témoin.

Les % d'activation sont calculés par rapport à l'activité de l'essai témoin.

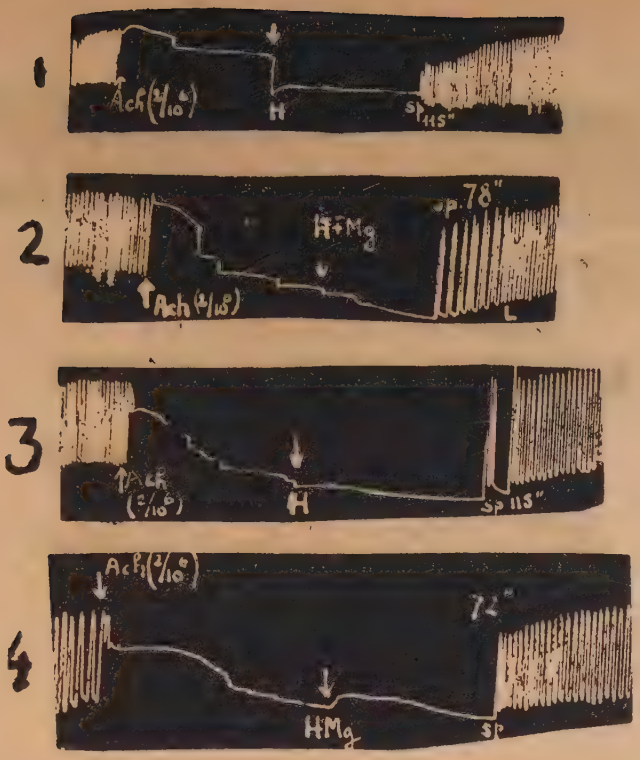


FIG. 32. — Exp. 52 : Cœur d'escargot. Cl_2Mg.
1 = Essai témoin. Reprise en 115". — 2 = $MgCl_2$ à 1 /2.000. Reprise en 78". — 3 = Essai témoin. Reprise en 115". — 4 = $MgCl_2$ à 1 /10.000. Reprise en 72".

FIG. 33. — Exp. 10 : Cœur d'escargot $HgCl_2$.
1 = Étalonnage. — 2 = Essai témoin. Reprise en 1'45". — 3 = $HgCl_2$ à 1 /1.000. Reprise en 3'00. — 4 = $HgCl_2$ à 1 /10.000. Reprise en 2'10".

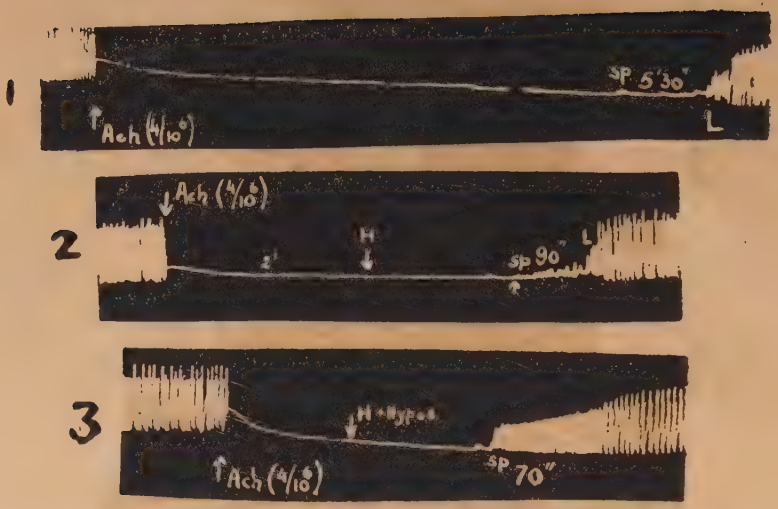


FIG. 34. — Exp. 12 : Cœur d'escargot. Hyposulfite de Na.
1 = Étalonnage. Reprise en 5'30". — 2 = Essai témoin. Reprise en 1'30". — 3 = Hyposulfite à 1/10.000. Reprise en 1'10".

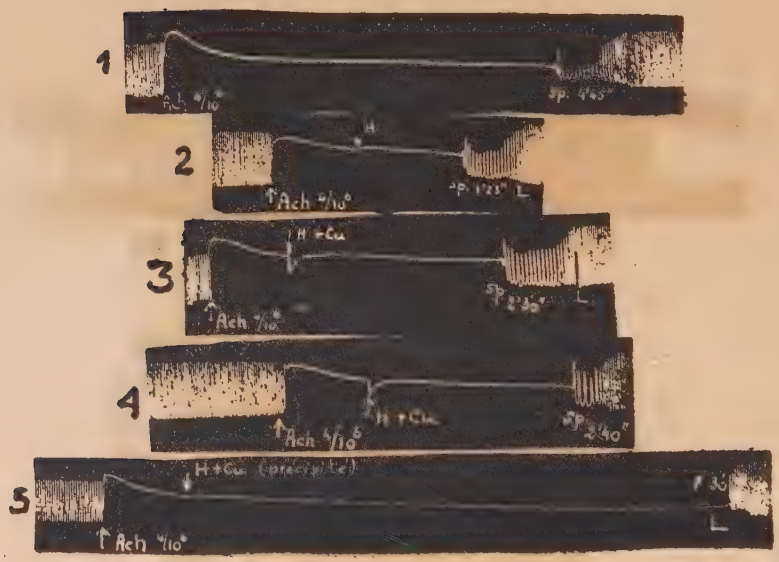


FIG. 35. — Exp. 21 : Cœur d'escargot. So ⁴Cu.
1 = Étalonnage. Reprise en 4'45". — 2 = Essai témoin. Reprise en 1'23". — 3 = SO ⁴Cu. 1/100.000. Reprise en 2'30". — 4 = SO ⁴Cu. 1/10.000. Reprise en 2'40". — 5 = SO ⁴Cu. 1/1.000. Reprise en 7'30".

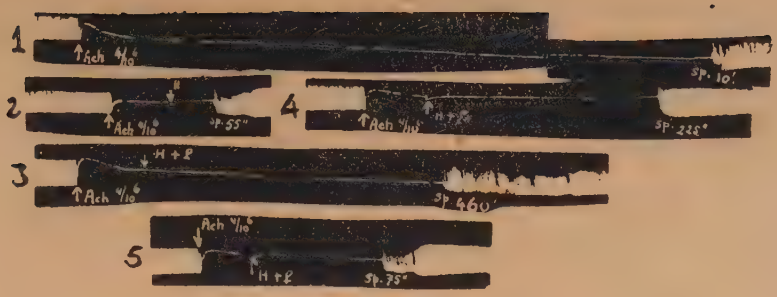


FIG. 36. — Exp. 243 : Cœur d'escargot. Hypophosphite de Na. 1 = Étalonnage. Reprise en 10′. — 2 = Essai témoin. Reprise en 0′55″. 3 = Hypophosphite de Na. 1/100. Reprise en 7′40″. — 4 = Hypophosphite de Na. 1/1.000. Reprise en 3′45″. — 5 = Hypophosphite de Na. 1/100.000. Reprise en 1′15″.

En résumé, l'on peut donc dire que Au, As, Pb, Zn, B, Hg, K, Sb, Cu et l'hypophosphite de Na sont inhibiteurs à des degrés divers de la CHE de l'hémolymphe d'Escargot.

Par contre, celle-ci est activée par Mg, Ca, l'hyposulfite de Na.

Donc, nous croyons pouvoir affirmer que la CHE de l'hémolymphe d'Escargot se comporte d'une manière analogue à celle du sérum de Mammifères vis-à-vis des divers ions expérimentés.

4. Études, in vivo, sur le Cobaye

Nous avons étudié les modifications de l'activité de la cholinestérase du sérum de Cheval in vitro. Nous avons ainsi pu constater qu'un grand nombre d'ions inorganiques inhibent l'action de ce ferment et que d'autres ions entraînent une activations enzymatique.

Cette étude faite hors de l'organisme vivant ne pouvait que donner des résultats partiels. Nous avons jugé nécessaire, afin de pouvoir tendre vers des constatations plus générales, de compléter nos expériences par des essais in vivo.

Nous attribuons à ces essais une plus grande valeur pratique qu'à la première série, car dans ce cas nous pouvons connaître non seulement l'effet direct du toxique sur la cholinestérase sérique, mais encore l'effet global de ce toxique sur un organisme conservant intactes toutes ses facultés de défense et d'équilibration.

Un autre point mérite d'être signalé dans cette série expérimentale, c'est que les sérums de Cobaye et de Cheval ne se comportent pas toujours de la mêm emanière vis-à-vis de certains inhibiteurs. L'histamine inhibe le pouvoir hydrolytique du sérum de Cobaye, alors que la cholinestérase sérique de Cheval n'est pas influencée par cette amine, quelles qu'en soient les doses utilisées. Le comportement de ces enzymes d'espèces différentes est-il identique envers les ions inorganiques ? C'est également la question que nous avons cherché à résoudre.

Méthode

Nous avons pratiqué des injections de divers sels inorganiques à des Cobayes et nous avons étudié les variations concomitantes de la cholinestérase sérique.

La cholinestérase du sérum de Cobaye est très variable d'un animal à l'autre, mais est pratiquement constante chez le même individu.

C'est pourquoi, nous rejetons la méthode de travail par comparaison statistique. Nos cobayes ont été testés avant et après l'expérience ; nous n'attachons d'importance qu'aux variations pouvant être constatées chez un même animal.

Nous avons montré que le taux de la cholinestérase chez le Cobaye subit des variations saisonnières : ce taux est haut au printemps et en été, il est bas en hiver. Nous avons attribué cette variation à une déficience hivernale en vitamine C alimentaire. Il semble que le froid joue également un certain rôle. Ce sont les raisons pour lesquelles les animaux furent gardés à une température constante et reçurent une nourriture identique ; nos

expériences ne durèrent pour chaque série qu'un maximum de 8-10 jours, période insuffisante pour entraîner une variation du taux cholinestérasique due à des circonstances extérieures.

Les prises de sang furent faites par ponctions cardiaques. Elles ne dépassaient que rarement 1-1,5 ccm de sang et étaient espacées d'au moins 48 heures. Nous savons en effet que la saignée baisse le taux de la cholinestérase sérique, mais que la récupération se fait en moins de 24 heures. On laisse le sang se coaguler à la température ambiante et on attend que le caillot se rétracte avant de mettre le sang à la glacière. Le dosage n'a jamais été fait plus tard que 24 heures après son prélèvement.

Le dosage fut pratiqué, comme pour le sérum de Cheval, par la méthode de HALL et LUCAS.

Les solutions injectées furent administrées par voie sous-cutanée, rarement par voie intra-musculaire. Nous n'avons jamais utilisé la voie intra-veineuse.

L'injection de certaines drogues a donné lieu à de petites eschares sous-cutanées, incapables de modifier le taux de la cholinestérase sérique.

Résultats

Afin d'éviter les répétitions, nous donnons nos résultats expérimentaux sous forme d'un tableau synoptique, que nous commenterons ensuite.

Ions	Cobaye	Poids	Dose reçue*) en g/kg	CHE avant	CHE après	Résultat en %	Moyenne
	—	—	—	—	—	—	—
			ANIONS				
Bromure de sodium	m.	340	5 × 0,50	2,30	2,67	+)12 %	
	m.	355	5 × 0,50	2,50	3,10	+ 24 %	+ 17 %
	m.	480	5 × 0,50	2,36	2,70	+ 14 %	
Iodure de sodium	m.	540	4 × 0,20	2,14	1,52	— 29 %	
	m.	525	4 × 0,20	2,16	1,58	— 27 %	— 28 %
Hyposulfite de sodium..	f.	480	5 × 0,50	2,77	3,45	+ 24 %	
	m.	430	5 × 0,50	1,84	2,93	+ 58 %	+ 41 %
Myosalvarsan[1])	m.	520	4 × 0,04	2,95	1,30	— 56 %	— 55 %
	m.	530	4 × 0,04	3,44	1,60	— 54 %	
	m.	520	6 × 0,04	3,15	0,84	— 77 %	— 69 %
	m.	560	6 × 0,04	3,40	1,27	— 61 %	
Tartrate double de Sb et K.....	m.	590	3 × 0,003	1,85	1,30	— 30 %	— 16 %
	m.	480	3 × 0,003	1,90	1,85	— 2 %	
Tartrate double de Sb et Na	m.	640	6 × 0,02	1,04	1,10	+ 3 %	+ 1 %
	m.	460	6 × 0,02	1,05	1,03	— 1 %	
Huile phosphorée[2])	f.	610	2 × 1 ccm.	2,58	1,59	— 39,5 %	— 46 %
	f.	550	2 × 1 ccm.	2,85	1,38	— 52 %	
Borate de sodium	m.	360	2 × 0,30	3,99	3,50	— 12,5 %	
	m.	420	3 × 0,30	3,62	2,39	— 34 %	
	m.	380	4 × 0,30	3,95	2,75	— 31 %	

*) Les doses injectées furent calculées d'après ABDERHALDEN (Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, 7, 7,), pour obtenir une intoxication chronique par l'ion étudié.

[1]) Le Myosalvarsan est une variante du Novarsénobenzol, injectable par voie intra-musculaire.

[2]) L'huile phosphorée du Codex, que nous avons employée, est une huile de vaseline fluide contenant, en solution, 0,475-0,525 % de phosphore.

Ions	Cobaye	Poids	Dose reçue*) en g/kg.	CHE avant	CHE après	Résultat en %	Moyenne
	—	—	—	—	—	—	—
			Cations				
Chlorure d'ammonium[3]).	m.	480	4×0,05	1,85	2,33	+ 26 %	+ 18 %
	m.	340	4×0,05	2,56	2,82	+ 10 %	
Sulfate de lithium.....	m.	610	4×0,05	1,60	1,33	— 17 %	— 17 %
	m.	680	4×0,05	1,43	1,20	— 17 %	
Sulfate de potassium....	m.	350	2×0,30	2,93	2,80	— 5 %	
	f.	430	3×0,30	3,00	3,10	+ 3 %	
	f.	380	4×0,030	2,60	2,74	+ 5 %	
Hyposulfite de Calcium.	m.	580	3×0,20	0,87	0,86	0	
	m.	540	3×0,20	1,28	1,08	— 15 %	— 8 %
	m.	400	3×0,20	1,20	1,05	— 10 %	
Galactogluconate de Calcium	f.	540	5×0,40	3,10	3,27	+ 5 %	+ 5 %
	f.	510	5×0,40	2,70	2,87	+ 5 %	
Chlorure de Calcium....	m.	480	4×0,10	2,57	1,65	— 36 %	—35,5 %
	m.	535	4×0,10	1,89	1,24	— 35 %	
Chlorure de magnésium .	m.	410	4×1,0	2,40	3,60	+ 33 %	
	m.	430	5×1 g	2,05	2,75	+ 34 %	+ 34,5 %
	m.	570	2×1 g.	1,40	1,90	+ 36 %	
Hyposulfite de magnésium	m.	410	3×1,0	1,94	1,91	— 1 %	
	m.	640	3×1,0	1,66	1,85	+ 11 %	+ 5 %
Chlorure de baryum	m.	380	4×0,01	2,37	1,70	— 29 %	
	m.	440	3×0,01	1,82	1,71	— 9 %	— 19 %
Sulfate de zinc	f.	425	2×0,075	3,80	3,51	— 8 %	
	f.	350	3×0,075	3,55	2,54	— 19 %	
	f.	520	4×0,07	3,35	1,79	— 46 %	
Chlorure de manganèse..	m.	505	4×0,01	2,01	1,10	— 45 %	
	m.	400	4×0,01	1,55	1,10	— 29 %	— 37 %
Acétate de nickel	m.	230	2×0,01	2,93	2,68	— 8 %	
	m.	400	3×0,01	2,90	2,95	+ 2 %	
	m.	350	4×0,01	2,93	3,00	+ 2 %	
Chlorure stanneux.....	f.	430	2×0,01	3,63	3,05	— 16 %	
	f.	500	3×0,01	3,30	2,75	— 18 %	
	f.	380	4×0,01	4,00	1,99	— 50 %	
Sulfate d'aluminium	m.	540	2×0,01	2,45	2,44		
	m.	480	3×0,01	2,60	2,05	— 21 %	
	m.	500	4×0,01	2,93	2,51	— 15 %	
Protéinate d'argent.....	f.	560	2×0,05	1,86	1,03	— 45 %	
	f.	340	3×0,05	3,77	2,30	— 39 %	
	f.	610	4×0,05	3,80	1,59	— 59 %	
Myoral[4])	m.	565	5×0,015	4,12	2,06	— 50 %	
	m.	575	5×0,015	3,22	2,69	— 16 %	— 40 %
	m.	550	5×0,015	4,30	2,06	— 55 %	
Acétate de Pb-triéthyle.	f.	720	2×0,01	3,37	1,50	— 56 %	
	f.	560	2×0,01	2,80	1,35	— 52 %	— 49 %
	f.	440	2×0,01	3,20	2,00	— 38 %	
Sulfate de cuivre.....	m.	480	4×0,01	1,42	0,95	— 31 %	
	m.	370	4×0,01	1,36	1,28	— 6 %	— 19 %
Sublimé	f.	590	2×0,02	2,20	1,83	— 17 %	— 46 %
	f.	590	2×0,02	3,44	0,88	— 75 %	
	m.	630	3×0,02	2,33	mort		
	m.	530	3×0,02	2,20	mort		
Merfen[5])	m.	470	3×1 ccm.	1,24	0,74	— 41 %	— 32 %
	m.	560	3×1 ccm.	1,79	1,40	— 22,5 %	
Oléo-Bi[6])	f.	600	5×1 ccm.	2,94	1,48	— 55 %	— 45 %
	f.	680	8×1 ccm.	2,58	1,70	— 35 %	
Esérine.....	m.	350	2×0,0005	3,55	0,85	— 76 %	
	m.	420	3×0,0005	3,84	1,48	— 62 %	— 68 %

[3]) Le pH du sérum de cobayes traités par les injections de chlorure d'ammonium ne différait pas de celui d'animaux témoins.

[4]) Le Myoral est un composé aurique en solution huileuse injectable par voie intramusculaire. Sa formule chimique est : aurothioglycolate de Ca, et sa teneur en Au : 64,16 %.

[5]) Le « Merfen » est un produit désinfectant du commerce, dont la formule est : borate de phényl-hydrargyre. Nous avons utilisé ce produit afin de comparer l'action d'un Hg organique avec celle d'un Hg minéral (sublimé). Sol. aq. à 2 °/°°.

[6]) L'oléo-Bi est un oléate de bismuth, titrant 0,012 g. par ccm.

Discussion

Comme on peut le voir sur le tableau, les réactions générales de la cholinestérase sérique du Cobaye se font dans le même sens que dans nos expériences in vitro sur le sérum de Cheval.

Par contre l'on assiste à de nettes *différences quantitatives*. Ces différences quantitatives peuvent d'ailleurs être expliquées par des faits assez simples. Nombre d'organes interviennent dans la régulation de la cholinestérase sérique. Le plus important de ces organes est le foie.

Dans l'intoxication par ions inorganiques que nous avons produite chez le Cobaye, il est hors de doute que nous avons perturbé fortement le fonctionnement des divers parenchymes glandulaires et que nous avons créé des troubles anatomiques.

A l'action directe du ion sur la cholinestérase, que nous avons constatée in vitro, vient s'ajouter la modification de ce ferment par lésion organique des viscères.

Par contre, l'organisme vivant réagit, dans d'autres cas, en neutralisant par des mécanismes que nous ne connaissons que mal l'action toxique de certains ions. On pourrait supposer une néo-formation de ferment, ayant pour but de rétablir le taux enzymatique initial.

Il nous faut enfin mentionner quelques cas particuliers :

I. *Divergences avec les expériences in vitro*

BrNa. Si nous comparons les résultats obtenus dans l'expérience in vitro sur le sérum de Cheval avec ceux des essais in vivo sur Cobayes, nous constatons une nette différence. En effet, le BrNa est un inhibiteur puissant de la cholinestérase du sérum de Cheval in vitro, alors qu'il accélère celle du Cobaye in vivo.

Il en est de même pour le *tartrate double de Sb et Na.* Léger inhibiteur in vitro, il est pratiquement inactif sur la cholinestérase du sérum de Cobaye in vivo.

Une action inverse peut-être constatée avec le Cl_2Ca, *qui,* activateur in vitro, est inhibiteur in vivo. Idem pour l'*hyposulfite de Ca.*

Une discordance analogue se révèle avec les injections de SO^4K_2, inhibiteur léger in vitro, inactif in vivo.

De même, le *chlorure manganeux* ne paraît pas avoir d'action in vitro sur le sérum de Cheval, mais inhibe in vivo, la cholinestérase du sérum de Cobaye.

Ces quelques divergences sont intéressantes. Il est possible que l'introduction de certains ions dans un organisme vivant déclenche de nombreux mécanismes compensateurs. Un de ces mécanismes, que l'on peut invoquer dans le cas des injections de sels de Ca, est une libération de ions K, qui est un inhibiteur de la cholinestérase. La réaction dépasse-t-elle le but ? C'est ce qu'il nous est permis de supposer.

L'inverse se produirait en cas d'injections de sels de K.

Mais une autre hypothèse doit être examinée : nos expériences in vitro portent sur une cholinestérase de sérum de Cheval ; celles in vivo, sur une cholinestérase de sérum de Cobaye. Or, de nombreux travaux antérieurs montrent les différentes réactions des cholinestérases de diverses espèces animales. En particulier, il existe certainement une différence de comportement entre les cholinestérases sériques de Cheval et de Cobaye, d'autant plus que le Cheval, contrairement au Cobaye, possède un fort tonus du vague.

Nous avons par conséquent refait l'étude de l'action ionique sur le sérum de Cobaye in vitro. Le sérum de Cobaye étant fort difficile à obtenir en quantité suffisante, nous avons dû limiter cette variation à deux ions seulement : le Br et le Sb, car si nous pouvons admettre des mécanismes équilibrateurs pour des ions normalement présents dans le sérum (Ca, K), il est plus difficile de s'imaginer des réactions analogues pour des ions étrangers au sérum (du moins en quantité notable).

L'étude de la cholinestérase du sérum de Cobaye nous a donné les résultats suivants :

Le *bromure de sodium* exerce une inhibition prononcée sur la cholinestérase du sérum de Cobaye, tout comme sur celle du sérum de Cheval. La différence constatée entre les essais in vivo et in vitro ne réside donc pas en une différente réactivité des cholinestérases d'espèces éloignées, mais doit être recherchée dans un mécanisme compensateur qui se produirait lors de l'introduction de bromure dans un organisme vivant.

Quant au *chlorure de manganèse,* indifférent sur la cholinestérase du sérum de Cheval et inhibiteur en injection au Cobaye, il provoque une certaine accélération de la cholinestérase quand il est mis en contact direct avec le sérum de Cobaye.

Ici, outre les phénomènes compensateurs, il est possible que la différence d'origine des sérums entre en jeu.

Ces faits limitent encore davantage les constatations générales que nous avons faites dans ce travail, dans le sens que les résultats obtenus ne peuvent être étendus sans autre aux espèces autres que celles que nous avons étudiées.

2. *Expériences de réactivation*

Nachmansohn et Lederer ont indiqué, comme nous l'avons déjà dit à plusieurs reprises, que l'ion Ca^{++} est un réactivateur de la cholinestérase.

Cherchant à déterminer le mécanisme de l'action « désensibilisante » de certains corps utilisés dans ce but en thérapeutique, nous avons pu montrer que l'acide ascorbique par exemple, inactif sur une cholinestérase intacte, rendait son activité à une cholinestérase inhibée par divers toxiques. Il en est de même pour le Ca. Nous avons pu constater que si l'on baisse l'activité de la cholinestérase sérique du Cobaye par des injections de Myosalvarsan (0,08 g/kg) on obtient une chute fermen-

taire de 70 % environ. Si l'on traite ces cobayes par des injections simultanées de gluconate de calcium (0,40 g/kg) cette baisse n'est plus que de 35 % en moyenne.

Le calcium est donc un réactivateur de la cholinestérase in vivo, tout comme il rend, in vitro, son activité à une cholinestérase détruite par dialyse.

Accessoirement, on voit qu'il existe un relai cholinestérasique dans l'action désensibilisante du calcium.

3. *Corps étudiés uniquement in vivo ou in vitro*

Notre expérimentation sur Cobayes porte sur un certain nombre d'ions non étudiés in vitro. La raison de ce fait est que chez l'animal on peut injecter des solutions huileuses (huile phosphorée, oléate de bismuth) qui ne se prêtent pas à l'étude in vitro, qui nécessite des solutions aqueuses incolores. Inversément, certains ions n'ont pas pu être injectés aux Cobayes à cause de leur grande causticité, comme le nitrate d'argent, le sulfate de fer, etc. Pour tous ces corps, nous avons dû nous contenter des expériences in vitro.

Conclusions

Les expériences dont nous venons de donner les résultats détaillés ont, en dehors de l'intérêt purement théorique, un intérêt pratique dans le sens qu'elles semblent devoir nous donner la clé de la pathogénie des symptômes de certaines intoxications.

Il est curieux, par exemple, de constater en analysant les manifestations de l'intoxications saturnine, que la majeure partie des troubles cliniques sont la conséquence d'une forte hypervagotonie (coliques, spasmes de la musculature lisse, troubles musculaires striés). Or, nous venons de montrer que le Pb est un des inhibiteurs les plus puissants de la CHE, tant in vivo qu'in vitro. On imagine facilement que les symptômes vagotoniques puissent appraître, lorsque l'acétylcholine n'est plus suffisamment détruite par une cholinestérase inhibée.

Il en est de même dans l'intoxication stibée : l'animal intoxiqué par des doses massives de Sb présente une salivation abondante, des nausées, des vomissements, de la diarrhée, une dyspnée asthmatiforme, enfin une asthénie musculaire aboutissant à la mort dans de violentes convulsions.

En même temps, le cœur est fortement déprimé, la tension tombe. Le cœur finit par s'arrêter en diastole.

Or, ce syndrome, celui d'une hypervagotonie aiguë, se superpose point par point à celui produit par une injection massive intra-veineuse d'acétylcholine.

Régulation nerveuse de la Cholinestérase

Le système ACh-CHE, qui règle la transmission nerveuse, subit, de son côté, une influence fonctionnelle du système nerveux, et cela non seulement dans les organes à régulation cholinergique, mais encore dans le sérum.

Diverses recherches ont pu montrer qu'il existe une influence directe de certains centres nerveux sur le taux de la CHE musculaire, nerveuse et sérique, de même que ces centres règlent d'autres métabolismes.

1. *Influence du système nerveux sur la CHE musculaire.*

Nous savons, grâce aux travaux de NACHMANSOHN et de ses collaborateurs, que la CHE du muscle se concentre dans les plaques motrices neuro-musculaires, alors que le protoplasma musculaire, dépourvu de terminaisons nerveuses (comme le cinquième supérieur du couturier de Grenouille), est très pauvre en CHE.

Le taux de la CHE musculaire dépend donc du rapport

$$\frac{\text{Volume des plaques motrices}}{\text{Volume des fibres musculaires}}$$

comme l'a bien montré NACHMANSOHN.

a) *énervation du muscle* (1).

Dans une intéressante série de recherches, MARTINI et TORDA (1937 a, b) ont pu montrer l'évolution de la CHE du muscle gastrocnémien de Rat ou de Cobaye, après section du nerf sciatique. Par rapport à la patte symétrique servant de témoin, ces auteurs ont constaté les variations suivantes de l'activité du ferment :

---

(1) ÉNERVATION DU MUSCLE ET SA SENSIBILITÉ A L'ACh.

DALE et GADDUM (1930) ont montré que le muscle énervé est plus sensible à l'Ach. BROWN (1937 a, b) précise que le muscle énervé de Grenouille et de Mammifère est dans un état d'activité spontanée constante, ce qui produit une série continue de potentiels d'action diphasiques. L'injection d'ACh dans l'artère irriguant un tel muscle provoque une double réponse, consistant en une contraction rapide initiale, suivie, si la concentration de l'ACh injectée est suffisamment forte, d'une contracture lente. La réponse rapide à l'ACh est accompagnée d'une série de potentiels d'action, identiques à ceux des muscles normaux, mais persistant plus longtemps.

La cause de cette hypersensibilité et de ce prolongement d'action résiderait dans la baisse absolue de la CHE du muscle énervé (NACHMANSOHN, BRUECKE, etc.). Tel, par contre, n'est pas l'avis de LEE (1939) qui voit dans la baisse du K+ musculaire après énervation la cause premlère de cette hyperréactivité à l'ACh. La perfusion d'un muscle énervé de Crapaud par une solution riche en ions K+ rendrait à ce muscle sa sensibilité initiale.

MENG (1940) s'oppose également à l'idée que la sensibilisation par énervation est due à une baisse de la CHE.

Comme on peut le voir, la question est encore loin d'être résolne.

Le premier jour après l'énervation, la CHE musculaire ne change pas ; mais dès le deuxième jour, elle subit une inactivation progressive. Elle atteint —12 % le 2e jour, —36 % le 3e jour, —51 % le 8e jour et —74 % le 12e jour. Puis, le taux se stabilise.

Ces résultats ont été obtenus sur des muscles entiers par des méthodes biologiques, puis confirmées (Martini et Torda, 1937 c) par la méthode bio-chimique d'Ammon.

C'est par l'inactivation de la CHE, après énervation, que ces auteurs cherchent à expliquer l'hypersensibilité à l'ACh des muscles d'Oiseaux et de Mammifères, qui se manifeste une semaine après l'énervation. Ces faits expliqueraient également l'apparition des fibrillations musculaires se produisant après ésérination ou énervation, ainsi que le phénomène bien connu de la contracture psudo-motrice de Vulpian-Sherrington.

Marnay et Nachmansohn (1937), qui ont exploré ce sujet en même temps que les auteurs précédents, trouvent des résultats apparemment contraires. Recherchant le Qche des muscles énervés, par des méthodes bio-chimiques, ils trouvent une augmentation du quotient dans ces muscles. Mais l'augmentation n'est qu'apparente : en effet, la fibre contractile du muscle fond rapidement sous l'effet de l'énervation, alors que les plaques motrices gardent leur volume initial pendant très longtemps. Comme la CHE se concentre surtout au niveau des plaques motrices, et que le rapport

$$\frac{\text{volume pl. mot.}}{\text{vol. fibres musc.}}$$

se modifie fortement en faveur de ces plaques, on assiste à une hausse apparente du Qche (qui se rapporte, rappelons-le, à 100 mgr de tissu musculaire, et non au muscle entier, comme c'est le cas dans les expériences de Martini et Torda).

Mais à un stade ultérieur, la fonte de fibres dépasse la hausse apparente de la CHE, et le Qche baisse. (Couteaux et Nachmansohn, 1938, 1940).

En fait, Couteaux (1942) a pu montrer que la CHE baisse d'une manière absolue dans les plaques motrices après énervation.

Leibson (1939), reprenant ces expériences, constate que l'énervation d'un muscle chez le Lapin entraîne, 6 jours après l'intervention, une baisse de la CHE musculaire de 40 %. Puis le taux CHE remonte en 3 semaines et dépasse même son niveau initial, atteignant parfois les valeurs des muscles embryonnaires.

Les constatations des trois groupes de chercheurs sont certainement exactes et la contradiction de leurs résultats n'est qu'apparente.

En effet, il ne faut pas oublier que tant Martini et Torda que Leibson ont travaillé sur des muscles entiers, et les résultats qu'ils ont obtenus sont *absolus*. Tandis que Nachmansohn et

ses collaborateurs ont cherché des valeurs *relatives*, c'est-à-dire le cœfficient d'activité cholinestérasique par fraction de muscle d'un poids fixe, où l'on trouve une quantité de plus en plus grande de plaques motrices (à haute teneur cholinestérasique) au fur et à mesure de la fonte des fibres contractiles pauvres en CHE.

Un autre facteur peut expliquer les résultats divergents. C'est le moment où les dosages ont été pratiqués.

Il semble que les mesures de MARTINI et TORDA aient eu lieu immédiatement après l'énervation, alors que NACHMANSOHN attend la dégénérescence nerveuse avant de pratiquer ses dosages.

Ce sont donc des stades différents que les auteurs ont saisi au cours de leurs recherches.

b) *Section de la mœlle.*

Afin de savoir si les variations de la CHE musculaire dépendent d'une action trophique du nerf ou d'un effet des centres supérieurs, MARTINI et TORDA (1938 a, d) ont pratiqué chez des Rats une section transversale de la mœlle dorsale au niveau de D 7 - D 8. La CHE du gastrocnémien de l'animal ainsi opéré est progressivement inactivée pendant la première semaine après l'intervention, puis retrouve peu à peu son activité première et parfois même la dépasse.

Il s'agit donc d'un effet trophique du nerf, car celui-ci, après une phase brève de paralysie, retrouve une activité autonome.

c) *Destruction du cervelet.*

Poursuivant leurs recherches, MARTINI et TORDA (1938, b et c) étudient l'influence de la destruction du cervelet sur la CHE musculaire.

Chez le Rat normal, la teneur en CHE est très différente d'un muscle à l'autre. Par exemple, elle est bien moins abondante dans le gastrocnémien que dans le tibial antérieur et plus active dans l'extenseur des doigts que dans les biceps.

Or, la destruction du cervelet entraîne une *égalisation* de la teneur en CHE des muscles antagonistes au niveau de la valeur la plus basse. Ainsi le taux CHE du tibial antérieur baisse et devient égal à celui du biceps.

Cette égalisation entraîne un déséquilibre des muscles antagonistes.

d) *Destruction de l'hémisphère cérébral droit.*

Cette intervention n'exerce aucune influence sur l'activité de la CHE musculaire (MARTINI et TORDA, 1938 b).

e) *Effet de la section du nerf moteur sur la plaque motrice.*

COUTEAUX (1942) a noté que la quantité absolue de la CHE au niveau de la plaque motrice baisse après section du nerf moteur. Mais cette baisse se fait tardivement, très lentement et ne se manifeste d'une façon nette que 4 à 5 semaines après la section.

2. *Influence du système nerveux sur la CHE nerveuse.*

a) *La CHE au cours de la dégénérescence Wallerienne.*

L'extrémité périphérique d'un nerf sectionné est appauvrie en CHE deux semaines après la section. Par contre, le bout central voit son QCHE doubler à la même période (COUTEAUX et NACHMANSOHN, 1938).

De leur côté, HELLAUER et UMRATH (1939) montrent que l'ACh augmente dans le nerf en dégénérescence et la CHE ne subit aucune modification, tant que le nerf est encore capable de transmettre des excitations au muscle.

Mais, lorsque le nerf devient insensible aux excitations, tout en présentant encore des courants d'action, il y a baisse de la teneur en ACh et en CHE, baisse qui devient de plus en plus rapide avec le temps.

MURALT et SCHULTESS (1944), reprenant cette étude chez le Cobaye, observent que, 4 heures après la section de sciatique, le taux de l'ACh commence à baisser dans le tronçon périphérique et ne représente, 50 à 70 heures après la section, que 10 % de sa valeur initiale.

La faculté de synthèse du nerf diminue également au cours de la dégénérescence Wallerienne, mais on la retrouve, quoique très faible, 80 heures après la section nerveuse. Il existe un taux critique de l'ACh du nerf, au-dessous duquel l'excitabilité disparaît. La relation entre l'activité nerveuse et sa teneur en ACh est donc évidente.

b) *La CHE du nerf après section de la moëlle.*

Une section de la moëlle entre D 7 et D 8 entraîne une chute d'activité CHE dans la sciatique, chute qui, après 1 à 3 semaines, s'annule. Le taux fermentaire tend alors à remonter et dépasse même le niveau initial. C'est donc un processus analogue à celui constaté dans le muscle (MARTINI et TORDA, 1938 e).

c) *La CHE médullaire après sa séparation des centres supérieurs.*

Si l'on coupe la moëlle d'un Rat par une section transversale au niveau de D 7 - D 8 (MARTINI et TORDA, 1938, h, i), la teneur en CHE de la moëlle lombaire (normalement plus haute que celle de la moëlle cervicale) tombe plus bas que cette dernière. Cette chute d'activité enzymatique s'accentue jusqu'au dixième jour après la section, puis le taux se stabilise et tend même à remonter (pour autant que les animaux ne succombent pas avant ce stade à une cystite purulente).

La période d'inactivation maximum de la CHE correspond à l'hyperréflectivité maximum de la moëlle, que l'on constate après sa séparation des centres supérieurs.

Ces constatations sont en concordance avec les observations de SCHWEITZER et WRIGHT (1937, 1938) qui, par des drogues inhibant la CHE, produisent des résultats analogues.

d) *Le système ACh-CHE dans le ganglion sympathique après section des fibres préganglionnaires.*

La section des fibres préganglionnaires de la chaîne sympathique cervicale du Chat entraîne des troubles de la transmission au niveau du ganglion cervical supérieur (Coppee et Bacq, 1938) : deux jours après la section, il faut sommer les influx pour franchir les synapses et une fatigue apparaît rapidement au cours d'une excitation prolongée. Ces troubles de la transmission évoluent rapidement jusqu'au blocage complet. Il est prouvé que la dégénérescence Wallerienne classique ne peut pas être rendue responsable de ce bloc, car la conduction persiste dans les fibres préganglionnaires.

Or, Brown et Feldberg (1936) ont observé que la teneur en ACh du ganglion cervical du Chat tombe, après section des fibres préganglionnaires, à 10-20 % de sa valeur initiale. Mac Intosh (1938 a, b) montre également qu'après cette section, le ganglion perd, dans les 2 à 3 jours suivant la section, la majeure partie de de son complexe acétylcholinique de réserve. Cette baisse est parallèle à la perte de la conductibilité et de l'excitabilité du ganglion.

Quant à la CHE, elle subit également une forte baisse après énervation du ganglion, et cela avant même que les fibres aient eu le temps de dégénérer (V. Bruecke, 1937).

L'évolution est donc identique pour l'ACh et la CHE et explique les troubles de la transmission constatées par Coppe et Bacq.

REGULATION NERVEUSE DE LA CHOLINESTERASE SERIQUE

Au cours de nos recherches sur la CHE sérique dans le choc traumatique, nous avons pu recueillir un certain nombre d'observations qui nous ont fait admettre la possibilité d'une régulation nerveuse de la CHE sérique.

Nous ne prétendons pas avoir démontré d'une manière absolue cette régulation nerveuse, mais nous avons cru pouvoir l'énoncer comme une hypothèse de travail.

Voici les principaux faits que nous avons pu observer :

1° Un traumatisme portant sur un des membres, entraîne, chez le Cobaye, une baisse marquée et temporaire de l'activité de la CHE sérique.

2° Cette inhibition ne se produit que si la fonction nerveuse centrale se trouve intacte, car l'anesthésie générale à l'éther ou une morphinisation intense suppriment cette variation, même après la disparition des effets anesthésiques.

3° La cholinestérase sérique ne s'inactive que si le foyer traumatique est relié au reste de l'organisme par une circulation normale. En effet, si l'on applique un garrot à la base du membre

devant subir le traumatisme, il n'y a pas de variations de la CHE tant que le garrot reste en place, mais l'inactivation fermentaire se produit dès que l'on lève ce garrot.

4° Enfin, l'inhibition de la CHE sérique se produit, même si le muscle est préalablement énervé ou si l'on a fait une section physiologique (novocaïnisation) des nerfs centripètes partant du muscle).

Nous avons interprété ces faits de la manière suivante : L'inhibition de la CHE constatée au cours du choc traumatique serait due à la pénétration dans l'organisme d'une substance toxique, prenant naissance dans le foyer traumatique, et agissant sur certains centres nerveux. Il ne peut s'agir d'une action directe de cette substance sur le ferment, car dans ce cas, l'anesthésie ou la morphinisation ne modifieraient pas les variations de la CHE.

C'est par ce raisonnement que nous sommes arrivés à admettre comme hypothèse de travail l'existence d'un centre nerveux régulateur de l'activité cholinestérasique du sérum.

Certains autres faits nous confirment dans cette idée d'une régulation nerveuse centrale de la CHE et nous permettent de supposer que cette régulation se localise dans les centres nerveux végétatifs et, en particulier, dans la région de l'hypothalamus.

1. Deux malades atteints d'un syndrome hypothalamique, avec troubles neuro-végétatifs et musculaires, ont présenté une extrême instabilité du taux de la CHE sérique. Nos dosages ont porté sur une durée d'un an environ et ont montré des variations irrégulières de la CHE, pouvant passer du simple au double.

2. Chez un certain nombre de malades qui ont subi, pour des raisons diverses, une irradiation de la région cervico-latérale, nous avons pu constater des hausses de la CHE sérique, 45 minutes après l'irrédiation. L'application des rayons X sur d'autres régions du corps n'a donné lieu a aucune variation de la CHE. Or, l'influnce vasomotrice du ganglion cervical supérieur sur la région hypothalamique est primordiale.

3. Jones et Tod (1937) ont montré que chez des instables neuro-végétatifs et chez certains malades psychiques (catatonie, etc.) la CHE sérique était en dehors des limites normales.

Si par diverses drogues (n'influençant pas par elles-mêmes le taux de la CHE sérique), on arrive à stabiliser le système nerveux végétatif de ces malades, le taux de la CHE sérique revient aux normes habituelles.

Evidemment, tous ces faits sont plus des présomptions que des preuves absolues pour la démonstration de centres nerveux réglant le taux de la CHE sérique. Il est toutefois utile d'en tenir compte.

Résumé et Conclusions

Dans notre travail nous avons cherché à mettre en évidence l'influence qu'exercent divers facteurs physiologiques sur l'activité du système ACh-CHE.

Nous avons ainsi pu observer les faits suivants :

A. VITAMINES ET CHOLINESTERASE :

1. *La vitamine C favorise l'activité de la cholinestérase.* En effet,

a) Le taux de la CHE sérique du Cobaye baisse fortement dans le scorbut expérimental et revient à la normale après administration parentérale d'ascorbate de soude ;

b) les organes scorbutiques sont beaucoup plus sensibles à l'ACh que les organes normaux, et cela par l'insuffisance d'action de la CHE ;

c) Le taux de la CHE sérique du Cobaye varie avec les saisons ; il est le plus bas en hiver et le plus haut à la fin du printemps ; cette variation est parallèle à celle du taux de l'acide ascorbique des organes du Cobaye ;

d) Au cours des avitaminoses médicamenteuses, l'activité cholinestérasique du sérum baisse parallèlement au taux de la vitamine C ;

e) Enfin, l'ascorbate de soude réactive une CHE sérique préalablement inhibée ;

f) Par contre, l'acide ascorbique n'exerce aucune action sur une cholinestérase à fonction normale. Il ne peut activer celle-ci, sauf dans le cas du muscle Rectus abdominis de Grenouille.

2. *La vitamine B_1 n'exerce aucune action sur la CHE,* sauf à des concentrations nettement supra-physiologiques. Par contre, *elle entre en compétition avec l'ACh pour ses récepteurs tissulaires* et, suivant les concentrations et les organes, elle inhibe ou accroit l'activité de l'ACh. De plus l'aneurine, intervient dans la synthèse de l'ACh et se trouve intimement mêlée au métabolisme de l'hormone.

3. *La Lactoflavine, l'amide nicotinique* restent sans effets sur la CHE ou l'action acétylcholinique, alors que la *Vitamine K* est légèrement inhibitrice de l'enzyme.

4. *La vitamine E exerce* in vitro une légère inhibition de la CHE sérique du Cheval. Par contre, chez le Rat, in vivo, l'avitaminose E provoque une chute du taux enzymatique. L'action de la vitamine ne s'exercerait pas directement, mais par l'altération des glandes génitales qui est constante dans cette avitaminose.

B. GLANDES ENDOCRINES ET CHOLINESTERASE.

L'étude est rendue difficile par l'interdépendance des sécrétion glandulaires. Toute schématisation est impossible. Néanmoins nous avons constaté que :

1. *Dans le lobe antérieur de l'hypophyse,* il existe à la fois des substances activatrices et des substances inhibitrices de la CHE. Suivant la préparation des extraits on obtient une stimulation ou une inhibition, légères d'ailleurs, de l'activité enzymatique. *Les extraits de lobe postérieur* sont légèrement inhibiteurs de la CHE sérique du Cobaye.

Chez l'animal castré, l'effet inhibiteur des extraits préhypophysaires prédomine.

2. *Les hormones de la surrénale,* n'exercent in vivo et in vitro aucune action sur la CHE sérique. Cependant, il semble que la surrénalectomie double entraîne une inactivation du ferment, inactivation reversible par la désoxycorticostérone.

3. *La sécrétion thyroïdienne* exerce une influence sur la CHE, mais elle agit d'une manière indirecte. En effet,

a) in vitro, la thyroxine inhibe légèrement la CHE sérique du Cobaye et du Cheval. Elle n'a pas d'influence sur l'enzyme du sérum humain ;

b) In vivo, la thyroïdectomie ne modifie pas notablement l'activité de la CHE sérique du Cobaye ;

c) Les injections de thyroxine ou d'extraits thyroïdiens totaux chez des Cobayes normaux ou thyroïdectomisés entraînent une inhibition de la CHE sérique (20 à 30 % en moyenne). Cette chute du taux enzymatique est plus ou moins rapidement compensée, soit au cours même du traitement, soit dans le mois qui suit l'arrêt de celui-ci ;

d) Chez les Cobayes castrés traités par la thyroxine la compensation ne se produit pas. Nous en concluons que l'effet de la thyroxine se fait en partie par l'intermédiaire de son action sur les glandes génitales.

4. *La sécrétion parathyroïdienne* ne semble pas jouer de rôle dans la régulation de la CHE.

5. *L'insuline* est également inactive sur la CHE, alors que *la Vagotonine* semble fortement inhibitrice de la CHE tant in vivo qu'in vitro ; cette dernière substance sensibilise les animaux à l'effet hypotenseur de l'ACh.

6. De toutes les sécrétions endocriniennes, *les hormones génitales* participent le plus puissamment à la régulation cholinestérasique. Il existe en effet des différences sexuelles du taux de la CHE sérique. Chez certaines espèces, le taux enzymatique varie suivant l'âge: les taux sont très différents avant, pendant et après la période d'activité génitale. La castration provoque chez la femelle, une forte instabilité du taux enzymatique, alors qu'elle l'abaisse nettement chez le mâle. Ces changements sont compensés par l'hormonothérapie homologue.

Les injections d'hormones à des Cobayes entiers, mâles ou femelles, montrent que la folliculine augmente l'activité de la CHE sérique, alors que l'hormone masculine reste sans effet.

7. Les diverses sécrétions endocriniennes ne modifient l'activité de la CHE que par une action indirecte. On suppose en particulier que les hormones génitales entraînent une surproduction d'ACh au niveau des récepteurs de ce médiateur chimique et que l'hyperactivité de la CHE ne serait qu'une réaction de défense de l'organisme contre cet excès d'ACh.

C. ACIDES AMINES ET CHOLINESTERASE.

1. Le glycocolle, l'alanine, la proline et les bases hexoniques (arginine, lysine et histidine) activent in vitro la fonction de la CHE. Cette activation dépend du taux initial de la CHE du sérum étudié : elle est d'autant plus forte que ce taux est normalement bas.

2. La cystéine et le trytophane se sont révélés indifférents.

3. Le pouvoir activateur des bases hexoniques est largement supérieur à celui des autres acides aminés étudiés.

4. Nous avons particulièrement étudié l'action anti-acétylcholinique de l'histidine, sur le rectus abdominis de Grenouille. Cette propriété est le fait de l'hyperactivité de la CHE sous l'influence de l'histidine. Cet acide aminé combat les effets inhibiteurs de l'ésérine.

5. In vivo, l'histidine est un fort activateur de la CHE sérique du Cobaye et de l'Homme, mais cette activation est variable d'un individu à l'autre. Elle manque parfois totalement. Jusqu'à présent nous n'avons pu trouver d'explication à cette discordance des réactions individuelles ; le taux cholinestérasique initial ne semble pas jouer de rôle.

D. INFLUENCE DE L'HISTAMINE SUR L'ACTION DE LA CHE ET DE L'ACh.

1.L'histamine sensibilise le muscle dorsal antérieur de la Sangsue, le cœur isolé de l'Escargot et le muscle Rectus abdominis de la Grenouille, à l'action de l'ACh.

2. Cette sensibilisation est qualitativement analogue à celle de l'ésérine. On peut constater la sommation des deux actions lorsque chacune d'elle n'est pas totale.

3. Nous supposons que l'histamine agit en inhibant la CHE musculaire ; elle ne potentialise pas l'action du K sur le muscle de Sangsue non ésériné.

4. L'étude de la CHE in vitro nous a montré que les enzymes sériques de l'Homme et du Cobaye étaient légèrement inhibés, alors que la CHE du sérum de Cheval ne réagissait pas à l'adjonction d'histamine.

5. L'intoxication chronique avec de faibles doses ou des doses massives d'histamine, le choc histaminique, n'entraînent pas de modifications notables de la fonction cholinestérasique du sérum.

6. Nous en concluerons que le rôle inhibiteur de la CHE attribué à l'histamine n'est qu'occasionnel et que l'on ne peut accorder à cette inhibition une signification physiologique ou pathologique.

E. EFFETS DES IONS INORGANIQUES SUR LA CHE.

1. *Etudes in vitro sur le sérum de Cheval :*

a) Sont inhibiteurs de la CHE sérique les ions suivants : F, I, Br, As, Sb, B, Li, Ba, Au, Ag, Cu, Hg, Pb, Fe.

b) Sont activateurs de la CHE sérique les ions suivants : Ca, Mg, NH_4, hyposulfites.

c) Le mode d'action de ces ions sur la CHE est dû fort probablement à la perturbation de la liaison entre le ferment et son substrat, liaison qui se produit par un échange ionique.

2. *Action des ions sur la contracture acétylcholinique.*

L'étude a été faite sur le muscle dorsal antérieur de la Sangsue non ésériné. Divers ions étudiés sensibilisent le muscle à l'action de doses sous-liminaires d'ACh. Nous avons attribué ce fait à l'inhibition de la CHE musculaire par ces ions.

3. *Action des ions sur la CHE de l'hémolymphe de l'Escargot.*

La CHE de cet animal réagit d'une manière différente de celle du sérum de Cheval. Cependant, en général, l'effet qualitatif reste le même.

4. *Action des ions in vivo sur le Cobaye.*

L'action de ces ions n'est pas univoque comme in vitro, car dans cette série expérimentale interviennent les facteurs de défense et de compensation de l'organisme ; d'autre part, les ions provoquent parfois des lésions des divers parenchymes, avec pour conséquence, des variations de la CHE sérique dépendant de ces lésions.

La plupart des ions étudiés donnent une inhibition de la CHE sérique du Cobaye, inhibition variable suivant les ions et suivant les réactions de chaque individu. D'autres ions sont activateurs de la CHE intacte, quelques uns enfin rétablissent l'activité d'un ferment préalablement inhibé.

En général, les résultats obtenus sont parallèles à ceux de la première série d'expériences, sur le sérum de Cheval, in vitro.

F. REGULATION NERVEUSE DE LA CHE.

La CHE des organes et même la CHE sérique subissent une régulation nerveuse. En effet :

1. *La CHE musculaire* est modifiée par l'énervation : son activité absolue décroît très fortement. Par contre, la section de la moëlle reste sans influence durable sur la CHE musculaire. La destruction du cervelet égalise les taux cholinestérasiques des muscles antagonistes des membres, alors que la destruction d'un hémisphère cérébral ne provoque pas de changement enzymatique.

2. *La CHE du nerf* baisse très nettement au cours de la dégénérescence Wallérienne. La section de la moëlle inactive temporairement la CHE du nerf, mais le taux de celle-ci ne tarde pas à revenir à son niveau initial.

3. *La CHE médullaire* voit son activité diminuer après séparation de la moëlle des centres supérieurs, puis remonte peu à peu.

4. La section des fibres préganglionnaires entraîne une chute de la *CHE du ganglion sympathique*, en même temps que le taux de l'ACh de l'organe baisse très rapidement.

5. Des observations expérimentales et cliniques nous permettent de supposer que la CHE sérique est sous la dépendance d'une action régulatrice de la part du système nerveux central. Divers arguments sont en faveur de l'existence *d'un centre de régulation nerveuse de la CHE sérique siégeant dans la région hypothalamique*.

Bibliographie

ABDERHALDEN, R. (1942). *Pflügers Arch.* t. 245, p. 155.

ABDERHALDEN, E. et R. ABDERHALDEN (1938). *Klin. Wschr.* t. 17, p. 1.480.

ABDON, N.O. et R. UVNAS (1937). *Skand. Arch. Physiol.* t. 76, p. 1.

ALLES, G.A. et R.C. HAWES (1940). *J. Biol. Chem.* t. 133, p. 375.

AMMON, R, (1933). *Pflügers Arch.* t. 233, p. 486.

AMMON, R. (1935). *Klin. Wschr.* t. 14, p. 435.

AMMON, R. (1942). *Zblt. inn. Med.* t. 63, p. 114.

AMMON, R. (1943). *Ergebnisse der Enzymforschung.* t. 9, p. 35.

AMMON, R. et E. SCHUTTE (1935).*Biochem. Z.* t. 275, p. 216.

AMMON, R. et G. VOSS (1935). *Pflügers Arch.* t. 235, p.393.

ANTOPOL, W., L. TUCHMAN et A. SHIFRIN (1937). *Proc. Soc. Exp. Biol, a. Med.* t. 36, p. 46.

ANTOPOL, W., S. GLAUBACH et D. GLICK (1939 a). *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* t. 42, p. 280.

ANTOPOL, W., S. GLAUBACH et D. GLICK (1939 b). *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* t. 42, p. 679.

ANTOPOL, W. et D. GLICK (1940). *J. Biol. Chem.* t. 132, p. 669.

ARISI, F. (1942).*Atteneo Parm.* t. 14, p. 373.

ARON, E., A.D. HERSCHBERG et E. FROMMEL (1944). *Helv. Physiol. Acta.* t. 2, p. 495.

BACQ, Z.M. (1937 a). *L'acétylcholine et l'adrénaline. Leur rôle dans la transmission de l'influx nerveux.* Masson, éd. Paris.

BARBOUR, H.G. et V.C. DICKERSON (1939). *J. Pharmacol.* t. 65, p. 280.

BAYER, G. et T. WENSE (1936 a). *Pflügers Arch.* t. 237, p. 417.

BAYER, G. et T. WENSE (1936 b). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 182, p. 533.

BENDER, M.B. (1939). *Amer. J. Physiol.* t. 126, p. 180.

BENDER, M.B. et S. SIEGAL (1939). *Amer. J. Physiol.* t. 128, p. 344.

BENETATO, G. et N. MUNTEANU (1941). *Pflügers Arch.* t. 245, p. 170.

BERNHEIM, F. (1933). *Amer. J. Physiol.* t. 104, p. 433.

BERNHEIM, F. et A. GORFAIN (1943). *J. Pharmacol.* t. 52, p. 338.

BERSIN, T., S. RAABE et J. H. LAUBER (1938). *Klin. Wschr.* t. 17, p. 1.014.

BEVERIDGE, J.M.R. et C.C. LUCAS (1941). *Science* (N.Y). t. 93, p. 356.

BEZNAK, A.B.L. (1933). *J. Physiol.* t. 82, p. 129.

BINET, L. et B. MINZ (1934 a). *C. r. Soc. Biol.* t. 115, p. 1.669.

BINET, L. et B. MINZ (1934 b). *C. r. Soc. Biol.* t. 116, p. 107.

BINET, L. et B. MINZ (1934 c). *C. r. Soc. Biol.* t. 117, p. 1.029.

BINET, L. et B. MINZ (1935). *C. r. Soc. Biol.* t. 118, p. 1.130.

BINET, L. et B. MINZ (1936). *Arch. internat. Physiol.* t. 42, p. 281.

BIRKHAUSER, H. et E.A. ZELLER (1941). *Helv. Chim. Acta.* t. 23, p. 1.460.

BLOCH, H. (1942). *Helv. Chim. Acta.* t. 25, p. 793.

BOELL, E.J. et C. NACHMANSOHN (1940). *Science* (N.Y.). t. 92, p. 513.

BOGDANOWITCH, S.B. et H.G. BARBOUR (1938). *J. Pharmacol.*. t. 62, p. 149.

BORI, D.V. et B. CERA (1939). *Quaderni Nutrizione*, t. 6, p. 301.

BOVET, D. et D. SANTENOISE (1941). *C. r. Soc. Biol.* t. 135, p. 844.

BOVET, F. et D. BOVET (1943). *Ann. Inst. Pasteur.* t. 69, p. 309.

BRECHT, K. (1940). *Pflügers Arch.* t. 243, p. 714.

BROUN, D. et A. BEAUNE (1935). *C. r. Soc. Biol.* t. 120, p. 1.205.

BROWN, G.L. 1937 a). *Proc. Roy. Soc. B.* t. 123, p. 406.

BROWN, G.L. (1937 b). *J. Physiol.* t. 89, p. 12. P

BROWN, G.L. et W. FELDBERG (1936 a). *J. Physiol.* t. 86, p. 40 P.

BROWN, G.L. et W. FELDBERG (1936 b). *J. Physiol.* t. 86, p. 290.

BROWN, G.L. et W. FELDBERG (1936 c). *J. Physiol.* t. 86, p. 41. P

BRUECKE, F. v. (1937 a). *J. Physiol.* t. 89, p. 429.

BRUECKE, F. v. (1937 b). *J. Physiol.* t. 90, p. 81.

BRUECKE, F. v., E. v. HUEBER et H. SARKANDER (1941). *Klin. Wschr.* t. 20, p. 587.

BUSINCO, L. (1940).*Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* t. 15, p. 836.

BUTT, H.R., M. W. COMFORT, T.J. DRY et A.E. OSTERBERG (1942). *J. Lab. Clin. Med.* t. 27, p. 649.

BYER, J. et K. HARPUDER (1940).*J. Pharmacol.* t. 70, p. 328.

CARRIERE, G., M. MOREL et P.J. GINESTE (1939). *C. r. Soc. Biol.* t. 132, p. 113.

CHANG, H.C. et J.H. GADDUM (1933). *J. Physiol.* t. 79, p. 255.

CHANG, H.C. et H. WONG (1933). *Chin. J. Physiol.* t. 7, p. 151.

CICARDO, V.H. et J.L. MOGLIA (1940 a). *C. r. Soc. Biol.* t. 134, p. 482.

CICARDO, V.H. et J.L. MOGLIA (1940 b). *Arch. internat. Physiol.* t. 50, p.268.

CIOGLIA, L. (1939). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* t. 14, p.736.

CIOGLIA, L. et F. INFANTELLINA (1940). *Arch. di Fisiol.* t. 39, p. 487.

CLARK, A.J. (1926). *J. Physiol.* t. 61, p. 530.

CLARK, A.J. (1927) *J. Physiol.* t. 64. p. 123.

CLARK, A.J. et J. RAVENTOS (1936). *Quart. J. Exp. Physiol.* t. 26, p. 375.

CLARK, A.J. et J. RAVENTOS (1938 a). *Quart. J. Exp. Physiol.* t. 28. p. 155.

CLARK, A.J. et J. RAVENTOS (1938 b). *Quart. J. Exp. Physiol.* t. 28, p. 177.

CLARK, A.J. et J. RAVENTOS (1939). *Quart. J. Exp. Physiol.* t. 29, p. 185.

CLARK, A.J., J. RAVENTOS, E. STEDMAN et E. STEDMAN (1938). *Quart. J. Exp. Physiol.* t. 28, p.77.

COCKRILL, J.R., E.G. MILLER et R. KURZROCK (1935). *Amer. J. Physiol.* t. 112, p. 577.

COPPEE, G. et Z. M. BACQ. (1938).*Arch. internat. Physiol.* t. 47, p. 312.

CORTEGGIANI, E. (1938). *Contribution à l'étude de l'acétylcholine libre et dissimulée sous forme d'un complexe dans le cerveau. Thèse Sciences,* Paris, 1938.

CORTEGGIANI, E., J. GAUTRELET, N. HALPERN et A. SERFATY (1936). *C. r. Soc. Biol.* t. 121, p. 316.

CORTELL, R., J. FELDMAN et E. GELLHORN (1941). *Amer. J. Physiol.* t. 132, p. 588.

COUTEAUX, R. (1942).*Bull. Biol. France et Belg.* t. 76, p. 14.

COUTEAUX, R. et D. NACHMANSOHN (1940). *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* t. 43, p. 177.

COUTEAUX, R. et D. NACHMANSOHN (1938). *Nature (London).* t. 11, p. 481.

CREDNER, K., et W. SCHUMRICK (1943). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 202, p. 155.

CROXATTO, H., F. HUIDOBRO, R. CROXATTO et H. SALVESTRINI (1939). *C. r. Soc. Biol.* t. 130, p. 236.

DALE, H.H. (1914). *J. Physiol.* t. 6, p. 147.

DALE, H.H. et A.J. EWINS (1914). *J. Physiol.* t. 48, p. 24. P

DALE, H.H. et J.H. GADDUM (1930). *J. Physiol.* t. 70, p. 109.

DALE, H.H., W. FELDBERG et M. VOGT (1936). *J. Physiol.* t. 86, p. 353.

DAVIDS, A.M. et M.B. BENDER (1940). *Amer. J. Physiol.* t. 131, p. 240.

DIJKSTRA, C. et A.K.M. NOYONS (1939). *Arch. internat. Physiol.* t. 49, p. 257.

DOMINI, G. et N. COLOMBINI (1938). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* t. 13, p. 1.177.

DROUET, P.L., M. VERAIN et FRANQUIN (1942). *Bull. Acad. Méd. Paris, IIIs.* t. 126, p. 412.

DUDLEY, H.W. (1933). *J. Physiol.* t. 79, p. 249.

DUFAIT, R. (1941). *Arch. internat. Pharmacodyn.* t. 66, p. 274.

EASSON, L.H. et E. STEDMAN (1936). *Proc. Roy. Soc. Séries B.* t. 121, p. 142.

ECCLES, J.C. (1937). *Physiol. Reviews.* t. 17, p. 538.

EMMELIN, N. et G. KALHLSON (1937). *Skand. Arch. Physiol.* t. 77, p. 297.

EMMENS, C.W., F.C. MCINTOSH et D. RICHTER (1943). *J. Physiol.* t. 101, p. 460.

ENTIN, I. (1939). *Biochim. J.* (Ukraine). t. 13, p. 275.

EPSTEIN, A., A.D. HERSCHBERG et J. PIQUET (1944). *C. r. Soc. Hist. Nat. Genève.* t. 61, p. 123.

ERSPAMER, V. (1939 b). *Arch. internat. Phramacodyn.* t. 63, p. 261.

ERSPAMER, V. (1939 c). *Arch. internat. Pharmacodyn.* t. 63, p. 385.

ERSPAMER, V. (1940). *Arch. internat. Pharmacodyn.* t. 64, p. 1.

ERSPAMER, V. (1941). *Arch. internat. Pharmacodyn.* t. 66, p. 45.

EULER, U.S. v. (1938). *J. Physiol.* t. 93, p. 129.

FABER, M. (1943 a). *Acta Méd. Scand.* t. 114, p. 59.

FABER, M. (1943 b). *Acta Méd. Scand.* t. 114, p. 72.

FABER, M. (1943 c).*Acta Méd. Scand.* t. 115, p. 475.

FEGLER, J., H. KOWARZYK et J. SZPUNAR (1938). *Bull. internat. Acad. Pol. Sci. Cl. Méd.* 1938. p. 517.

FELDBERG, W. et J.H. GADDUM (1934). *J. Physiol.* t. 81, p. 305.

FELDBERG, W. et B. MINZ (1934). *Pflügers Arch.* t. 233, p. 657.

FELDBERG, W. et J.A. GUIMARAIS (1936). *J. Physiol.* t. 86, p. 306.

FELDBERG, W. et A. FESSARD (1942). *J. Physiol.* t. 101, p. 200.

FENG, T.P. (1941). *Biol. Symposia.* t. 3, p. 121.

FONTAINE, T. (1935).*C. r. Soc. Biol.* t. 119, p. 1.045.

FRANCIONI, M. (1937). *Enzymologia.* t. 3, p. 200.

FROMMEL, E., A.D. HERSCHBERG et J. PIQUET (1943 g). *Helv. Physiol. Acta.* t. 1, p. 229.

FROMMEL, E., M. THALHEIMER, A.D. HERSCHBERG et J. PIQUET (1943). *Helv. Physiol. Acta.* t. 1, p. 451.

FROMMEL, E., E. ARON, A.D. HERSCHBERG, J. PIQUET et A. GOLDFEDER (1944). *Helv. Physiol. Acta.* t. 2, p. 111.

FROMMEL, E., A.D. HERSCHBERG et J. PIQUET (1944 a). *Helv. Physiol. Acta.* t. 2, p. 169.

FROMMEL, E., A.D. HERSCHBERG et J. PIQUET (1944 b). *Helv. Physiol. Acta.* t. 2, p. 193.

FROMMEL, E. et M. LOUTFI (1944). *C. r. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève.* t. 61, p. 30

FUHNER, H. (1918 a). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 82, p. 51.

FUHNER, H. (1918 b). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 82, p. 81.

GALEHR, O. et F. PLATTNER (1928 a). *Pflügers Arch.* t. 218, p. 488.

GALEHR, O. et F. PLATTNER (1928 b).*Pflügers Arch.* t. 218, p. 506.

GAUTRELET, J. et B. HALPERN (1935). *C. r. Soc. Biol.* t. 118, p. 412.

GAUTRELET, J. et H. SCHEINER (1939).*C. r. Soc. Biol.* t. 131, p. 738.

GENUIT, H. et K. LABENZ (1941). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 198, p. 369.

GERARD,, R. W. (1942). *Ann. Reviews Physiology.* p. 342.

GINSBERG, R., R. KOHN et H. NECHELES (1937). *Amer. J. Dig. Dis. Nutrit.* t. 4, p. 154.

GLICK, D. (1937 a). *Nature* (London). t. 140, p. 426.

GLICK, D. (1937 b). *Biochem. J.* t. 31, p. 521. (Id. *C. r. Trav. Lab. Carlsberg.* t. 21, p. 225).

GLICK, D. (1937 c). *C. r. Trav. Lab. Carlsberg.* t. 21, p. 263.

GLICK, D. (1938 a). *J. Biol. Chem.* t. 123, p. 42.

GLICK, D. (1938 b). *J. Biol. Chem.* t. 125, p. 729.

GLICK, D. (1938 c). *J. Gen. Physiol.* t. 21, p. 289.

GLICK, D. (1938 d). *J. Gen. Physiol.* t. 21 p. 297.

GLICK, D. (1938 e). *J. Gen. Physiol.* t. 21, p. 431.

GLICK, D. (1939 a). *J. Biol. Chem.* t. 128, p. 34.

GLICK, D. (1939 b). *J. Biol. Chem.* t. 130, p. 527.

GLICK, D. (1939 c). *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* t. 40, p. 140.

GLICK, D. (1941 a). *J. Biol. Chem.* t. 137, p. 357.

GLICK, D. (1941 b). *Nature* (London). t. 148, p. 662.

GLICK, D. (1941 c). *Biol. Symposia.* t. 5, p. 213.

GLICK, D. (1942). *J. Biol. Chem.* t. 144, p. 525.

GLICK, D. et W. ANTOPOL (1939 a). *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* t. 42, p. 397.

GUGGENHEIM, M. et W. LOFFLER (1915). *Biochem. Z.* t. 72, p. 303.

HALL, G.E. et G.H. ETTINGER (1937). *J. Pharmacol.* t. 59, p. 29.

HALL, G.E. et C.C. LUCAS (1937 a). *J. Pharmacol.* t. 59, p. 34.

HALL, G.E. et C.C. LUCAS (1937 b). *J. Pharmacol.* t. 61, p. 10.

HARRER, J.C. et C.G. KING (1941). *J. Biol. Chem.* t. 138, p. 111.

HAWES, R.C. et G.A. ALLES (1940). *J. Allergy,* t. 12, p. 1.

HAWES, R.C. et G.A. ALLES (1941). *J. Lab. Clin. Méd.* t. 26, p. 845.

HEIM, F. et A. FAHR (1940). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 195, p. 59.

HELLAUER, H. et K. UMRATH (1939). *Z. f. Biologie.* t. 99, p. 624.

HENRIQUEZ, V. et U. KLAUSEN (1932). *Biochem. Z.* t. 254, p. 414.

HERSCHBERG, A.D. et E. FROMMEL (1944). *C. r. Phys. Hist. Nat. Genève.* t. 61, p. 33.

HERSCHBERG, A.D., W. GEISENDORF et J. PIQUET (1944 a). *Monatsschr. Geburtsh. Gynäkol.* t. 117, p. 57.

HERSCHBERG, A.D., W. GEISENDORF et J. PIQUET (1944 b). *Schw. Méd. Wschr.* t. 74. p. 596.

HERSCHBERG, A.D. et A. EPSTEIN (1944). *C. r. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève.* t. 61, p. 129.

HERSCHBERG, A.D., E. FROMMEL et J. PIQUET (1944). *Helv. Physiol. Acta.* t. 2 p. 507.

HIMMELREICH, E. (1938). *Biochim. J.* (Ukraine). t. 12, p. 63.

HOFFMANN, E. (1930). *Helv. Chim. Acta.* t. 13, p. 138.

HOLTZ, P. et H. JANISCH (1937). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 187, p. 336.

HUNT, R. et R. de M. TAVEAU (1906).*Brit. Méd. J.* t. 2, p. 1.788.

ING et WRIGHT (1934). *Proc. Roy. Soc. London, s. B.* t. 114, p. 48.

JADASSOHN, W., H.E. FIERZ et H. VOLLENWEIDER (1943). *Schw. Méd. Wschr.* t. 73, p. 122.

JONES, M.S. et H. TOD (1935). *Biochem. J.* t. 29, p. 2.242.

JONES, M.S. et H. TOD (1936). *J. Mental. Sci.* t. 83, p. 202.

JONES M.S. et H. TOD (1939). *Quart. J. exp. Physiol.* t. 29, p. 63.

JULLIEN, A., D. VINCENT, M. VUILLET et M. BOUCHET (1939) *J. Physiol. Path. gén.* t. 37, p. 562 et 937.

KAHANE, E. et J. LEVY (1936 a). *C. r. Soc. Biol.* t. 121, p. 1.596.

KAHANE, E. et J. LEVY (1936 b). *C. r. Acad. Sciences.* t. 202, p. 781.

KAHANE, E. et J. LEVY (1936 c). *C. r. Acad. Sciences.* t. 202, p. 1.210.

KAHANE, E. et J. LEVY (1937). *Arch. internat. Pharmacodyn.* t. 57, p. 467.

KAHLSON, G. (1934). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 175, p. 198.

KAHLSON, G. et B. UVNAS (1935). *Skand. Arch. Physiol.* t. 72, p. 215.

KEESER, E. (1938). *Klin. Wschr.* t. 17, p. 1.811.

KRAUT, H. et W. v. PANTSCHENKO-JUREWICZ (1935). *Biochem. Z.* t. 275, p. 114.

KRAYER, O. et E.B. VERNEY (1934). *Klin. Wschr.* t. 13, p. 1.250.

KREITMAIR, (1934). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 176, p. 326.

KRUGER, W. (1939). *Klin Wschr.* t. 18, p. 19.

KWIATKOWSKI, H. (1938). *Fermentforschung.* t. 15, p. 138.

LACKEY, R.W. et D. SLAUGHTER (1939). *J. Pharmacol.* t. 66, p. 21.
LACKEY, R.W. et D. SLAUGHTER (1942). *J. Lab. Clin. Méd.* t. 27, p. 640.
LANGEMANN, H. (1942). *Helv. Chim. Acta.* t. 25, p. 464.
LEE, L.Y. (1939). *Chin. J. Physiol.* t. 14, p. 357.
LEIBSON, R. (1939 a). *Bull. Biol. Méd. Exp. U.R.S.S.* t. 7, p. 514.
LEIBSON, R (1939 b). *Bull. Biol. Méd. Exp. U.R.S.S.* t. 7, p. 518.
LEVY, J. et L. OLSZYCKA (1937). *C. r. Soc. Biol.* t. 126, p. 401.
LINDERSTROM-LANG, K. (1938). *C. r. Trav. Lab. Carlsberg.* t. 22, p. 300.
LISSAK, K. et T. KOVACS (1942). *Pflügers Arch.* t. 245, p. 790.
LISSAK, K., E.K. NAGY et J. PASZTOR (1942). *Pflügers Arch.* t. 245, p. 783.
LISSAK, K., T. KOVACS et E.K. NAGY (1943). *Pflügers Arch.* t. 247, p. 124.
LITTLE, J.M. et W.C. BENNETT (1940). *Amer. J. Physiol.* t. 130, p. 281.
LOEWI, O. (1921). *Pflügers Arch.* t. 189, p. 118.
LOEWI, O. (1922). *Pflügers Arch.* t. 193, p. 201.
LOEWI, O. (1937 a). *Naturwiss.* t. 25, p. 461.
LOEWI, O. et E. NAVRATIL (1924). *Pflügers Arch.* t. 206, p. 123 et 135.
LOEWI, O. et E. NAVRATIL (1926 a). *Pflügers Arch.* t. 214, p. 676.
LOEWI, O. et E. NAVRATIL (1926 b). *Pflügers Arch.* t. 214, p. 689.
LOEWI, O. et H. HELLAUER (1938 a). *Pflügers Arch.* t. 240, p. 449.
LOEWI, O. et H. HELLAUER (1938 b). *Pflügers Arch.* t. 240, p. 769.
LOEWI, O. et H. HELLAUER (1938 c) *J. Physiol.* t. 93, p. 34 P
McARDLE, B. (1940). *Quart. J. Méd.* t. 9, p. 107.
McINTOSH, F.C. (1938 a). *J. Physiol.* t. 92, p. 22. P
McINTOSH, F.C. (1938 b). *J. Physiol.* t. 93, p. 46. P
McINTOSH, F.C. (1938 c). *Arch. internat. Physiol.* t. 47, p. 321.
MAHAL, H.S. (1938). *Indian J. Méd. Res.* t. 25, p. 703.
MANN, P.J.G., M. TENNENBAUM et J.H. QUASTEL (1939 a). *Biochem. J.* t. 33, p. 822.
MANN, P.J.G., M. TENNENBAUM et J.H. QUASTEL (1939 b). *Biochem. J.* t. 33, p. 1506.
MARNAY, A. (1937). *C. r. Soc. Biol.* t. 126, p. 573.
MARNAY, A. (1938 a). *C. r. Soc. Biol.* t. 127, p. 896.
MARNAY, A. (1938 b). *C. r. Soc. Biol.* t. 128, p. 290.
MARNAY, A. (1938 c). *C. r. Soc. Biol.* t. 128, p. 519.
MARNAY, A. et D. NACHMANSOHN (1936). *C. r. Soc. Biol.* t. 122, p. 1.265.
MARNAY, A. et D. NACHMANSOHN (1937 a). *C. r. Soc. Biol.* t. 124, p. 446.
MARNAY, A. et D. NACHMANSOHN (1937 b). *C. r. Soc. Biol.* t. 124, p. 942.
MARNAY, A. et D. NACHMANSOHN (1937 c). *C. r. Soc. Biol.* t. 125, p. 41.
MARNAY, A. et D. NACHMANSOHN (1937 d). *C. r. Soc. Biol.* t. 125, p. 489.

MARNAY, A. et D. NACHMANSOHN (1937 e). *C. r. Soc. Biol.* t. 125, p. 1.005.

MARNAY, A. et D. NACHMANSOHN (1937 f). *C. r. Soc. Biol.* t. 126, p. 785.

MARNAY, A. et D. NACHMANSOHN (1937 g). *J. Physiol.* t. 89, p. 359.

MARNAY, A. et D. NACHMANSOHN (1938). *J. Physiol.* t. 92, p. 37.

MARNAY, A., B. MINZ et D. NACHMANSOHN (1937). *C. r. Soc. Biol.* t. 125, p. 43.

MARTINI, E. et C. TORDA (1937 a). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* t. 12, p. 200.

MARTINI, E. et C. TORDA (1937 b). *Klin. Wschr.* t. 16, p. 824.

MARTINI, E. et C. TORDA (1938 a). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* t. 13, p. 442.

MARTINI E. et C. TORDA (1938 b). *Klin. Wschr.* t. 18, p. 889.

MARTINI, E. et C. TORDA (1938 c). *Boll. Ital. Biol. Sper.* t. 13, p. 445.

MARTINI, E. et C. TORDA (1938 d). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* t. 13, p. 449.

MARTINI, E. C. TORDA (1938 e). *Klin. Wschr.* t. 18, p. 97.

MARTINI, E. et C. TORDA (1938 f). *Klin. Wschr.* t. 18, p. 98.

MARTINI, E. et C. TORDA (1938 g). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* t. 13, p. 447.

MARTINI, E., C. TORDA et A. ZIRONI (1939). *J. Physiol.* t. 96, p. 168.

MARTINI, V. (1940). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* t. 15, p. 1.102.

MASSART, L. et R. DUFAIT (1939). *Enzymologia*, t. 6, p. 282.

MASSART, L. et R. DUFAIT (1940 a). *Enzymologia.* t. 8, p. 392.

MASSART, L. et R. DUFAIT (1940 b). *Nature* (London), t. 145, p. 822.

MATTHES, K. (1930). *J. Physiol.* t. 70, p. 338.

MEERSON, T.I. (1940). *Eksper. Méd.* (U.R.S.S.) t. 2, p.1.

MENDEL, B., D. MUNDELL et F. STRELITZ (1939). *Nature* (London). t. 144, p. 479.

MENDEL, B., D. MUNDELL et F. STRELITZ (1940). *Nature* (London). t. 145, p. 822.

MENDEL, B. et H. RUDNEY (1943). *Biochem. J.* t. 37, p. 59.

MENDEL, B. et D. MUNDELL (1943). *Biochem. J.* t. 37, p. 64.

MENDEL, B., D. MUNDELL et F. STRELITZ (1943). *Biochem. J.* t. 37, p. 473.

MENG, C.W. (1940). *Chin. J. Physiol.* t. 15, p. 143.

MERKLEN, L., C. FRANCK et GRANDPIERRE (1935). *C. r. Soc. Biol.* t. 118, p. 1.562.

MICHAELIS, L. (1931). *Biochem. Z.* t. 234, p. 139.

MICHAELIS, L. et MENTEN (1913). *Biochem. Z.* t. 49, p. 1.333.

MILHORAT, A.T. (1938 a). *J. Clin. Invest.* t. 17, p. 649.

MILHORAT, A.T. (1938 b). *J. Pharmacol.* t. 23, p. 27.

MINZ, B. (1932 a). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 167, p. 85.

MINZ, B. (1932 b). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 168, p. 292.

MINZ, B. (1939). *C. r. Soc. Biol.* t. 131, p. 1.156.

MINZ, B. et R. AGID (1937). *C. r. Acad. Sciences.* t. 205, p. 576.

MOSTERS, J. (1936). *Klin. Wschr.* t. 15, p. 1.557.

MURALT, A. v. et J. ZEMP (1943) *Pflügers Arch.* t. 246, p. 746.

MURALT, A. v. et G. v. SCHULTESS (1944). *Helv. Physiol. Acta.* t. 2.

NACHMANSOHN, D. (1937 a). *Nature* (London). t. 140, p. 427.

NACHMANSOHN, D. (1937 b). *C. r. Soc. Biol.* t. 126, p. 783.

NACHMANSOHN, D. (1938 a). *Presse méd.* 1938/1. p. 942.

NACHMANSOHN, D. (1938 b). *C. r. Soc. Biol.* t. 127, p. 670.

NACHMANSOHN, D. (1938 c). *C. r. Soc. Biol.* t. 127, p. 804.

NACHMANSOHN, D. (1938 d). *C. r. Soc. Biol.* t.128, p. 24.

NACHMANSOHN, D. (1938 e). *C. r. Soc. Biol.* t. 128, p. 516.

NACHMANSOHN, D. (1938 f). *C. r. Soc. Biol.* t. 128, p. 599.

NACHMANSOHN, D. (1938 g). *C. r. Soc. Biol.* t. 128, p. 830.

NACHMANSOHN, D. (1938 h). *C. r. Soc. Biol.* t. 129, p. 941.

NACHMANSOHN, D. (1938 i). *J. Physiol.* t. 93, p. 2 P.

NACHMANSOHN, D. (1939 a). *C. r. Soc. Biol.* t. 130, p. 1.065.

NACHMANSOHN, D. (1939 b). *J. Physiol.* t. 95, p. 29.

NACHMANSOHN, D. (1940 a). *Science* (N.Y). t. 91, p. 405.

NACHMANSOHN, D. (1940 b). *Nature* (London). t. 145, p. 513.

NACHMANSOHN, D. (1940 c). *J. Neurophysiol.* t. 3, p. 396.

NACHMANSOHN, D. (1940 d). *Yale J. Biol. a. Méd.* t. 12, p. 565.

NACHMANSOHN, D. (1941). *Amer. J. Physiol.* t. 133, p. 395.

NACHMANSOHN, D. et E. LEDERER, (1939 a). *Bull. Soc. Chim. Biol.* t. 21, p. 797.

NACHMANSOHN, D., C.W. COATES et R.T. COX, (1941). *J. Gen. Physiol.* t. 25, p. 75.

NACHMANSOHN, D. et B. MEYERHOF (1941). *J. Neurophysiol.* t. 4, p. 348.

NAVRATIL, E. (1937 a). *Z. Geburtsh.* t. 114, p. 146.

NAVRATIL, E. (1937 b). *Klin. Wschr.* t. 116, p. 64.

NAVRATIL, E. (1939). *Arch. Gynäk.* t. 168, p. 178.

NECHELES, H. et F. NEUWELT (1938). *Amer. J. Physiol.* t. 124 p. 142.

NITZESCU, I.I. et C. TEODORU (1941). *Bull. Acad. Méd. Roum.* t. 11, p. 19.

OORDT, A. van (1936). *Dtsch. Méd. Wschr.* t. 62, p. 2.047.

OURY, A. et Z. M. BACQ (1937). *C. r. Soc. Biol.* t. 126, p. 1. 263.

OURY, A. et Z. M. BACQ (1938). *Arch. internat. Physiol.* t. 47, p. 92.

PALLADIN, A. et P. NORMARK (1924). *Biochem. Z.* t. 152, p. 420.

PANTSCHENKO, W. v. et H. KRAUT (1936). *Biochem. Z.* t. 285, p. 407.

PIROLLI, M. (1941 a). *Riforma Méd.* 1941, p. 1.225.

PIROLLI, M. (1941 b). *Cuore.* t. 25, p. 414.

PIROLLI, M. (1942 a). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* t. 17, p. 435.

PIROLLI, M. (1942 b). *Boll. Soc. Ital Biol. Sper.* t. 17, p. 437.

PLATTNER, F. (1926). *Pflügers Arch.* t. 214, p. 112.

PLATTNER, F. et H. HINTNER (1930). *Pflügers Arch.* t. 225, p. 19.

PLATTNER, F. et H. HINTNER (1929). *Pflügers Arch.* t. 222, p. 395.

PLATTNER, F. et H. TSUDZIMURA (1935). *Pflügers Arch.* t. 236, p. 175.

PUNT, A. (1942 a). *Acta brev. neerl. Physiol.* t. 12, p. 40.

PUNT, A. (1942 b). *Arch. néerl. Physiol.* t. 26, p. 212.

RANDALL, L.O. (1940). *J. Lab. Clin. Méd.* t. 25, p. 1.025.

RANDALL, L.O. (1939). *J. Biol. Chem.* t. 128, p. LXXXII.

RANDALL, L.O. (1939) et E.M. JELLINEK (1939). *Endocrinology.* t. 25, p. 278.

RASTELLI, G. (1942 a). *Vitaminologia,* t. 1, p. 113.

RASTELLI, G. (1942 b). *Vitaminologia,* t. 1, p. 151.

RAVENTOS, J. (1936 a). *J. Physiol.* t. 88, p. 5 P.

RAVENTOS, J. (1936 b). *Quart. J. Exp. Physiol.* t. 26, p. 361.

RAVENTOS, J. (1937). *J. Physiol.* t. 90, p. 8 P.

RAVENTOS, J. (1938). *Quart. J. Exp. Physiol.* t. 27, p. 99.

RENSHAW, R.R. et N. BACON (1926). *J. Amer. Chem. Soc.* t. 48, p. 1.726.

RENSHAW, R.R., D. GREEN et M. ZIFF (1938). *J. Pharmacol.* t. 62, p. 430.

REYNOLDS, S.R.M. (1939). *J. Physiol.* t. 95, p. 258.

REYNOLDS, S.R.M. (1941). *J. Invest. Dermatol.* t. 4. p. 7.

REYNOLDS, S.M.R. et F.I. FOSTER (1939 a). *Amer. J. Physiol.* t. 127, p. 343.

REYNOLDS, S.R.M. et F.I. FOSTER (1939 b). *Amer. J. Physiol.* t. 128, p. 147.

REYNOLDS, S.M.R. et F.I. FOSTER (1940 a). *Endocrinology.* t. 27, p. 841.

REYNOLDS, S.M.R. et F.I. FOSTER (1940 b). *Amer. J. Physiol.* t. 131, p. 200.

REYNOLDS, S.M.R. et F.I. FOSTER (1940 c). *Amer. J. Physiol.* t. 131, p. 422.

RICHTER, D. et P.G. CROFT (1942). *Biochem. J.* t. 36, p. 746.

RICHTER, D. et P.G. CROFT (1943). *J. Physiol.* t. 101, p. 9 P.

RIECHERT, W. et W. MUSEHOLD (1939). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 192, p. 524.

RIECHERT, W. et H. HUBSCHMANN (1939-40). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 194, p. 538.

RIECHERT, W. et W. FRISCH (1942). *Naunyn-Schmiedebergs Arc.* t. 200, p. 235.

RIECHERT, W. et C. SCHNARRENBERGER (1942). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 200, p. 225.

RIECHERT, W. et E. SCHMID (1942).*Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 199, p. 66.

RINKEL, M. et M. PIJOAN (1938). *J. Pharmacol.* t. 64, p. 228.

ROEPKE, M.H. (1937). *J. Pharmacol.* t. 59, p. 264.

ROEPKE, M.H. et A. De M. WELCH (1936). *J. Pharmacol.* t. 56, p. 319.

ROSS-BEATTIE, F.J. (1936). *Biochem. J.* t. 30, p. 1.554.

RUBINO, A. (1940). *Ormoni.* t. 2, p. 595.

RUMMA, K. et I. SIBUL (1943). *Z. ges. exp. Méd.* t: 112, p. 686.

RUNCAN, V. (1940). *Naunyn°Schmiedebergs Arch.* t. 195, p. 439.

SAALFELD, E. v. (1934-35). *Pflügers Arch.* t. 235, p. 15.

SABINE, J.C. (1940). *J. Clin. Investig.* t. 19, p. 833.

SANTENOISE, D., L. MERKLEN et M. VIDACOVITCH (1933). *C. r. Soc. Biol.* t. 114, p. 1.166.

SANZ, M.C. (1944). *Helv. Physiol. Acta.* t. 2, p. C 29.

SAVIANO, M. (1940). *Arch. di Sci. Biol.* t. 26, p. 581.

SAVIANO, M. (1942). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* t. 17, p. 24.

SCHALLER, K. (1942 a). *Z. Klin. Méd.* t. 141, p. 565.

SCHAR-WUTHRICH, B. (1943).*Helv. Chim. Acta.* t. 26, p. 1.836.

SCHEINER, H. (1939 a). *C. r. Soc. Biol.* t. 130, p. 748.

SCHOLZ, B. (1938). *Dtsch. Méd. Wschr.* t. 64, p. 374.

SCHWEITZER, A. et S. WRIGHT (1937 a). *J. Physiol.* t. 89, p. 165.

SCHWEITZER, A. et S. WRIGHT (1937 b). *J. Physiol.* t. 89, p. 384.

SCHWEITZER, A. et S. WRIGHT (1938). *Quart. J. Exp. Physiol.* t. 28, p. 33.

SCHWEITZER, A., S. WRIGHT et E. STEDMAN (1938). *J. Physiol.* t. 92, p. 6 P.

SCHWEITZER, A., E. STEDMAN et S. WRIGHT (1939). *J. Physiol.* t. 96, p. 302.

SCOZ, G. et C. CATTANEO (1937). *Enzymologia.* t. 4, p. 157.

SEIDLITZ, V. (1939). *Bull. Biol. Méd. Exp. U.R.S.S.* t. 7, p. 432.

SHERIFF, M.A.F. (1935). *J. Physiol.* t. 85, p. 298.

SPADOLINI, I. (1938). *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* t. 13, p. 18.

STAUB, H. (1942). *Klin, Wschr.* t. 21, p. 73.

STEDMAN, E., STEDMAN et L.H. EASSON (1932). *Biochem. J.* t. 26, 2.056.

STEDMAN, E., E. STEDMAN et A.C. WHITE (1933). *Biochem. J.* t. 27, p. 1.055.

STEDMAN, E. et E. STEDMAN (1935 a). *Biochem. J.* t. 29, p. 2.107.

STEDMAN, E. et E. STEDMAN (1935 b). *Biochem. J.* t. 29, p. 2.563.

STEINMAN, S.E. (1940). *Amer. J. Physiol.* t. 129, p. P 472.

STRACHITSKY, K.I. et T.I. MEERSON (1939). *Biochimyia.* t. 4, p. 60.

TAUBENHAUS, M. et S. SOSKIN (1941). *Endocrinology.* t. 29, p. 958.

THANNHAUSER, S.J., M. REICHEL et J. F. GRATTAN (1937). *J. Biol. Chem.* t. 121, p. 697.

TROWBRIGDE, C. (1941). *Proc. Soc. Exp. Biol a. Méd.* t. 16, p. 519.

TSUJI, R. (1932). *Pflügers Arch.* t. 229, p. 344.

UNGAR, G. et A. (1938). *C. r. Soc. Biol.* t. 127, p. 666.

VAHLQUIST, B. (1935). *Skand. Arch. Physiol.* t. 72, p. 133.

VINCENT, D. (1939 a). *C. r. Soc. Biol.* t. 130, p. 1.275.

VINCENT, D. (1939 c). *C. r. Soc. Biol.* t. 130, p. 1.273.

VINCENT, D. et A. JULLIEN (1941). *C. r. Soc. Biol.* t. 135, p. 1. 646.

WACHHOLDER, K. et J.F. LEDEBUR (1932). *Pflügers Arch.* t. 229, p. 657.

WATTENWYL, H. v. et R. WENNER (1941). *C. r. Assoc. Physiol. Suisses,* juillet 1941.

WATTENWYL, H. v. et E.A. ZELLER (1943). *Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges.* 1943, p. 158.

WATTENWYL, H. v., A. BISSEGGER, A. MARITZ et E.A. ZELLER (1943). *Helv. Chim. Acta.* t. 26, p. 2.063.

WEBSTER, M.D. (1925). *J. Physiol.* t. 53, p. 340.

WEECH (1938-39).*Harvey Lectures,* 1938-1939, p. 88.

WELCH, A. De M. et M. ROEPKE (1935). *J. Pharmacol.*. t. 54, p. P 163

WELCH, A. de M. et M.H. ROEPKE (1937). *J. Pharmacol.* t. 59, p. 264.

WENSE, T. (1937). *Fermentforschung.* t. 15, p. 291.

WENSE, T. et O. GRANZNER (1939). *Z. vergl. Physiol.* t. 27, p. 316.

WERLE, E. et G. STUTTGEN (1942). *Klin. Wschr.* t. 21, p. 821.

WILLSTATTER, R. et M. ROHDEWALD (1934). *Hoppe Seylers Z.* t. 225, p. 103.

WONG, A. et H.C. CHANG (1933). *Chin. J. Méd.* t. 47, p. 987.

YOUNGSTROM, K. A. (1938). *J. Neurophysiol.* t. 1, p. 357.

ZELLER, E.A. (1941). *C. r. Assoc. Physiol. Suisses,* 25 janvier 1941.

ZELLER, E.A. (1942 a). *C. r. Assoc. Physiol. Suisses,* janvier 1942.

ZELLER, E.A. (1942 b). *Helv. Chim. Acta.* t. 25, p. 1.099.

ZELLER, E.A. (1942 c) *Helv. Chim. Acta.* t. 25, p. 216.

ZELLER, E.A. (1944). *Helv. Physiol. Acta.* t. 2, p. C 23.

ZELLER, E.A. (1942 d). *C. r. Assoc. Physiol. Suisses,* 27 juin 1942.

ZELLER, E.A. et H. BIRKHAUSER (1940). *Helv. Chim. Acta.* t. 23, p. 1.457.

ZELLER, E.A. et H. BIRKHAUSER (1941). *Helv. Chim. Acta.* t. 24, p. 120.

ZELLER, E.A., H. BIRKHAUSER, H. v. WATTENWYL et R. WENNER (1941 a). *Helv. Chim. Acta.* t. 24, p. 962.

ZELLER, E.A., H. BIRKHAUSER, H. v. WATTENWYL et R. WENNER (1941 b). *Helv. Chim. Acta. t.* 24, p. 1.465. ,

ZELLER, E.A. et C.A. JOEL (1941). *Helv Chim. Acta.* t. 24, p. 968.

ZELLER, E.A. et A. BISSEGGER (1943). t. 26, p. 1.619.

ZIFF, M., F.P. JAHN et R.R. RENSHAW (1938). *J. Amer. Chem. Soc.* t. 60, p. 178

ZIMMET, D. (1938). *C. r. Soc. Physiol. Hist. Nat. Genève,* t. 55, p. 54.

ZINNITZ, F. (1939 a). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 194, p. 440.

ZINNITZ, F. (1939 b). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 194, p. 316.

ZINNITZ, F. et E. RENTZ (1940). *Naunyn-Schmiedebergs Arch.* t. 195, p. 329.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 9

PREMIÈRE PARTIE

LE SYSTÈME ACh-CHE : GÉNÉRALITÉS

Rappel du rôle physiologique du système ACh-CHE 13
Action physiologique de la CHE. 15
Mode d'action de l'acétylcholine. 22
Distribution du système ACh-CHE parmi les êtres vivants. . . 24
La cholinestérase dans le sang 25
Structure chimique de la cholinestérase 28
Origine de la cholinestérase. 31
Cinétique de la cholinestérase 33
Mode d'action de la cholinestérase. 35
Inhibitions de la cholinestérase 37
Méthodes de dosage de la cholinestérase 41
Équivalences des unités de cholinestérase. 53

DEUXIÈME PARTIE

RÉGULATION PHYSIOLOGIQUE DE LA CHE

Variations physiologiques de la CHE. 59
Variations fonctionnelles de la CHE 65

CHOLINESTÉRASE ET VITAMINES :

1. Vitamine C et cholinestérase. 68
2. Vitamine B_1 et système acétylcholine-cholinestérase. . . 88
3. Vitamine B_2 et cholinestérase 94
4. Vitamine PP et le système ACh-CHE 95
5. Vitamine K et cholinestérase 96
6. Vitamine E et cholinestérase 97

Le système ACh-CHE et les glandes endocrines :

1. Généralités. 98
2. Hypophyse et système ACh-CHE 101
3. Glandes surrénales et cholinestérase 106
4. CHE sérique et glande thyroïde 108
5. Système ACh-CHE et parathyroïdes 115
6. Sécrétions pancréatiques et système ACh-CHE 118
7. Le système ACh-CHE et les glandes sexuelles. 120

Influence des acides aminés sur la CHE. 138

Influence de l'histamine sur l'action de l'ACh et de la CHE. 148

Effets des ions inorganiques sur l'activité de la cholinestérase sérique :

1. Études, *in vitro*, sur le sérum de cheval 158
2. Action des divers ions sur la contracture acétylcholinique du muscle de sangsue non ésériné. 181
3. Effets des inhibiteurs et activateurs ioniques sur la CHE de l'hémolymphe de l'escargot 184
4. Études, *in vivo*, sur le cobaye. 190

Régulation nerveuse de la cholinestérase. 196

Résumé 203

Bibliographie. 209

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

DÉGRADATION DES HORMONES STÉROLIQUES (FOLLICULINE, TESTOSTÉRONE) DANS L'ORGANISME

Vu et approuvé :

Paris, le 12 Mars 1946

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

P. MONTEL.

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris.

G. ROUSSY.